

ANNEE 1968

N°

THÈSES

1^{er}

PRÉSENTÉES

A L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

POUR

LE DOCTORAT EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

Présentées et soutenues publiquement le 19 Janvier 1968

par

Jean-Marc AIACHE

Pharmacien

né le 27 Septembre 1938, Alger (Algérie)

- 1 THESE. - ESSAI D'UNE METHODE D'ANALYSE
DES EXCIPIENTS POUR
POMMADES ET SUPPOSITOIRES
- 2 THESE. - LES EXTRAITS ALLERGENIQUES.

Président : M. FEBVRE, Professeur

M. COULET, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE, Professeur

M. MOLINA, Professeur

ANNEE 1968

N°

THÈSES

PRÉSENTÉES

A L'UNIVERSITÉ DE CLERMONT FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

POUR

LE DOCTORAT EN PHARMACIE
(Diplôme d'État)

Présentées et soutenues publiquement le 19 Janvier 1968

par

Jean-Marc AIACHE

Pharmacien

né le 27 Septembre 1938, Alger (Algérie)

- 1 THESE. - ESSAI D'UNE METHODE D'ANALYSE
DES EXCIPIENTS POUR
POMMADES ET SUPPOSITOIRES
- 2 THESE. - LES EXTRAITS ALLERGENIQUES.

Président : M. FEBVRE, Professeur

M. COULET, Professeur

Membres du Jury : M. TRONCHE, Professeur

M. MOLINA, Professeur

Digitized by the Internet Archive
in 2026



UNIVERSITE
de
CLERMONT

FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Doyen : G. MEYNIEL,
Assesseur : M. COULET

Doyen Honoraire : M. CUVELIER Directeur Honoraire : M. MERLE.

Professeurs Honoraires : Mme BLANQUET, MM. BUREAU,
FOURNIER, GAUTHIER, POMMÉ.

I - Professeurs Titulaires

MM. BARRIER	- Clinique Chirurgicale A
BASTIDE	- Chimie biologique et Pharmacodynamie
BAUDON	- Clinique obstétricale
BERGER	- Chimie analytique
BERGERON	- Pathologie médicale
COULET	- Botanique et microbiologie
CUVELIER	- Hydrologie et Climatologie
DASTUGUE	- Biochimie médicale
DAUPHIN	- Chimie Pharmaceutique et Toxicologie
DELAGE	- Anatomie Pathologique
FEBVRE	- Pharmacie Galénique
GRAS	- Clinique Médicale
JACQUEMET	- Technique chirurgicale
JALLUT	- Séméiologie médicale
LATAIX	- Pathologie chirurgicale
MERCIER	- Anatomie
MEYNIEL	- Biophysique médicale
MOLINA	- Clinique Pneumo-phtisiologique
PETIT	- Médecine légale et Médecine sociale
POROT	- Clinique neurologique et psychiatrique
POURRAT	- Matière médicale
Mele RAMPON	- Thérapeutique
MM. ROUHER	- Clinique ophtalmologique
TERRASSE	- Clinique médicale B
THIEBLOT	- Physiologie
THOMAS	- Clinique Oto-Rhino-Laryngologique
TRONCHE	- Pharmacie chimique
TURCHINI	- Histologie et Embryologie
VAURS	- Bactériologie et Hygiène
WILLEMIN-CLOG	- Clinique Médicale infantile

II - Professeur Titulaire à titre personnel.

M. VIALLET - Electro-Radiologie.

III - Professeurs sans Chaire.

MM. ALFIERI	- Biophysique Médicale
CHAMPEIX	- Médecine légale et Médecine du travail.
CLUZEL	- Bactériologie
DUCHENE-MARULLAZ	- Physiologie
GERMAIN	- Clinique chirurgicale B

IV - Maître de Conférences Agrégés

M. BOSSY	- Anatomie
Mlle CHATONIER	- Chimie minérale et Minéralogie
Mme GAILLARD	- Physique pharmaceutique
M. MENUT	- Pédiatrie et Puériculture
Mme MOINADE	- Médecine générale et Thérapeutique
M. PIGNIDE	- Médecine générale
Mme POURRAT	- Botanique
M. VENRIES de LAGUILLAUMIE	- Anatomie Pathologique

V - Agrégés

MM. FOURRIER	- Orhtopédie
HOUDARD	- Chirurgie Générale
JANNY	- Neuro-chirurgie
RENARD	- Pneumo-phthisiologie
TOURNILHAC	- Neurologie et Psychiatrie

VI - Délégués dans les fonctions de Maitres de Conférences.

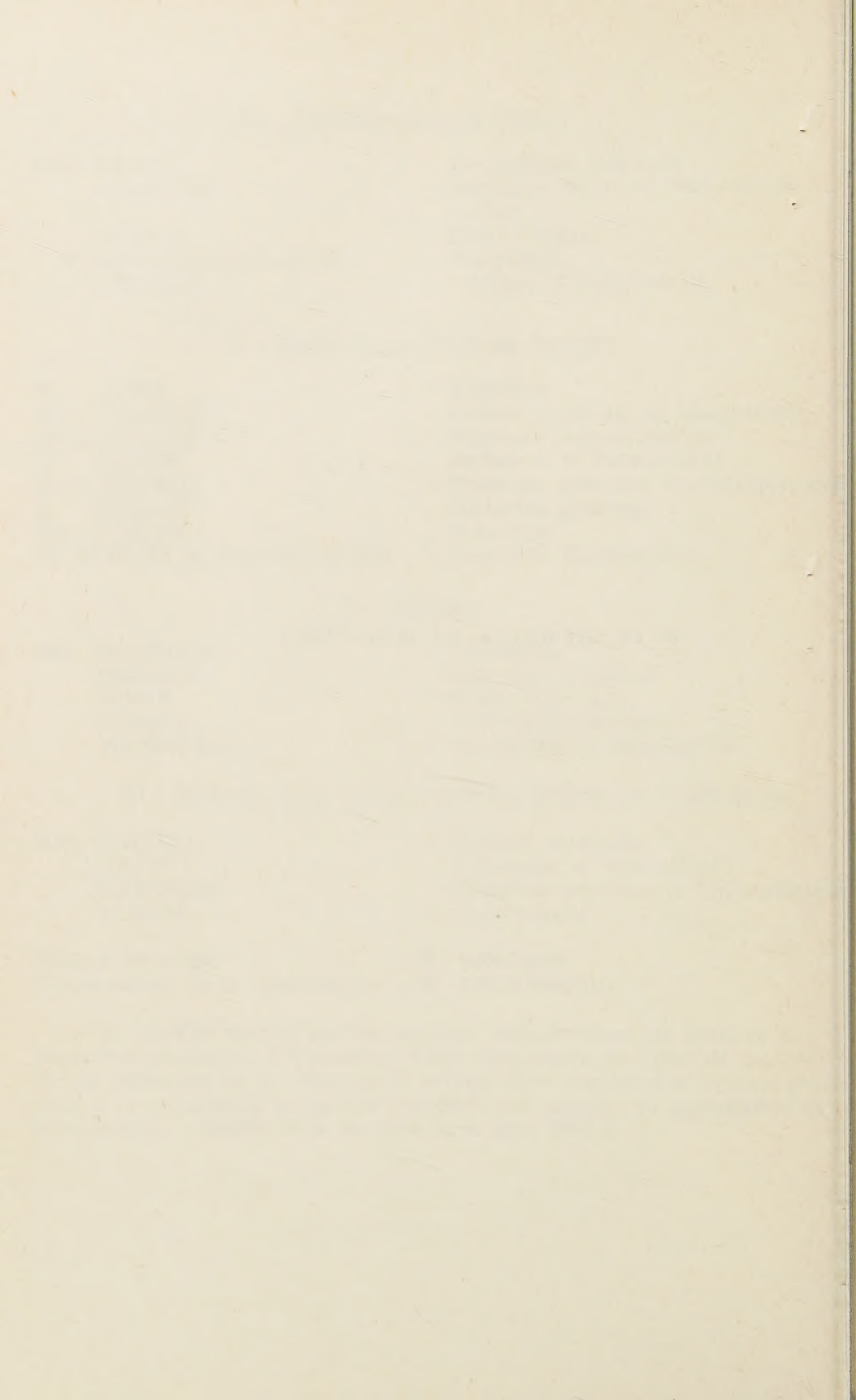
MM. JARREAU	- Matière médicale
MALET	- Histologie et embryologie
MARCHEIX	- Médecine générale et Thérapeutique
PLAGNE	- Cancérologie

Attaché Principal : M. BERTHON
Conservateur de la Bibliothèque : M. ARCHIMBAUD

La Faculté décide que les opinions émises dans les travaux et mémoires présentés à l'occasion d'une soutenance de thèse de Doctorat en Médecine ou en Pharmacie doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner, ni approbation ni improbation. (Délibération en date du 6 Juin 1956).

— — — — —

A la mémoire de mon Père.



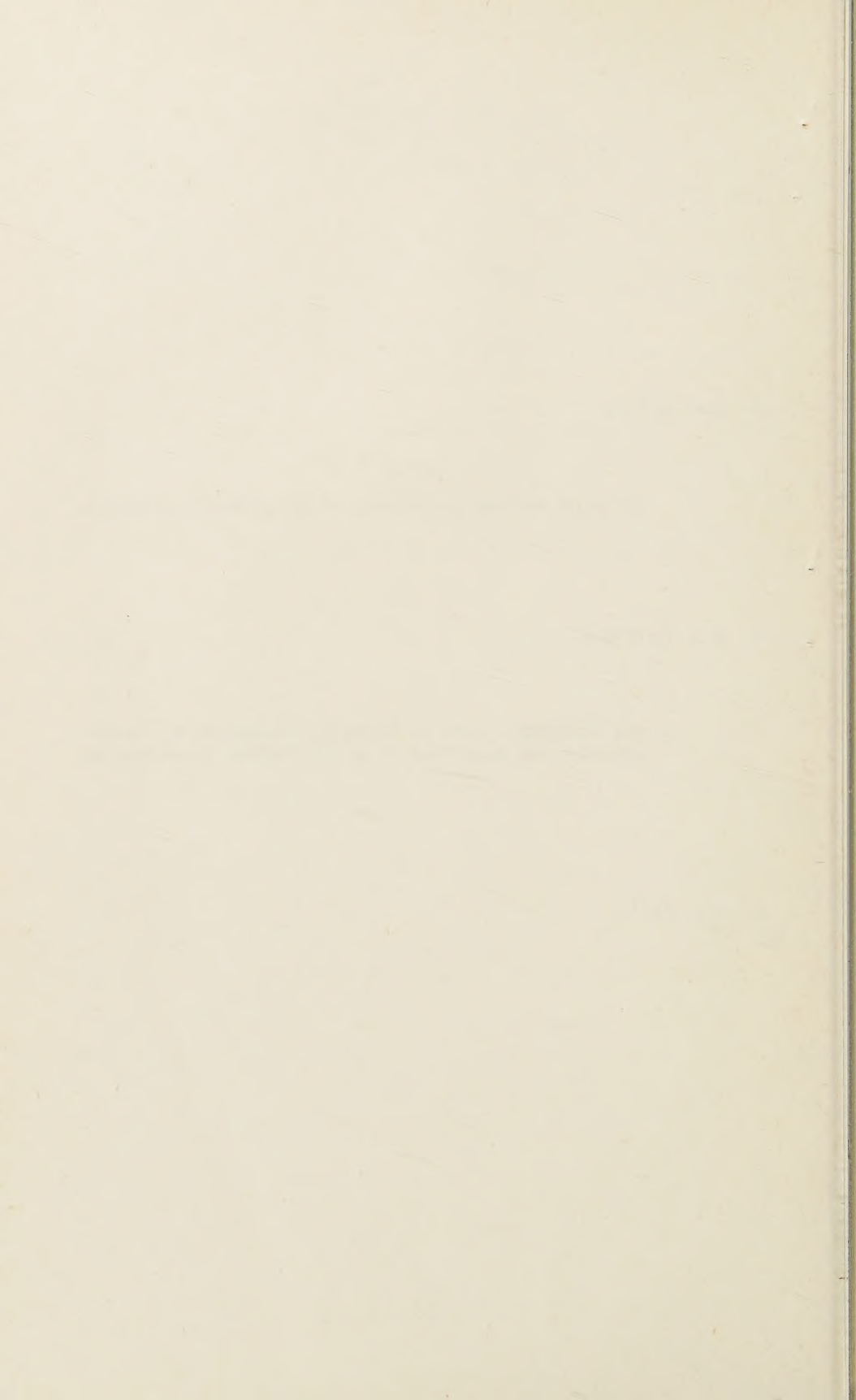
A ma mère

en gage de reconnaissance et de profonde affection.

A ma femme

ma compagne dont la présence constante et l'aide efficace ont contribué à la réalisation de ce travail.

A ma fille.

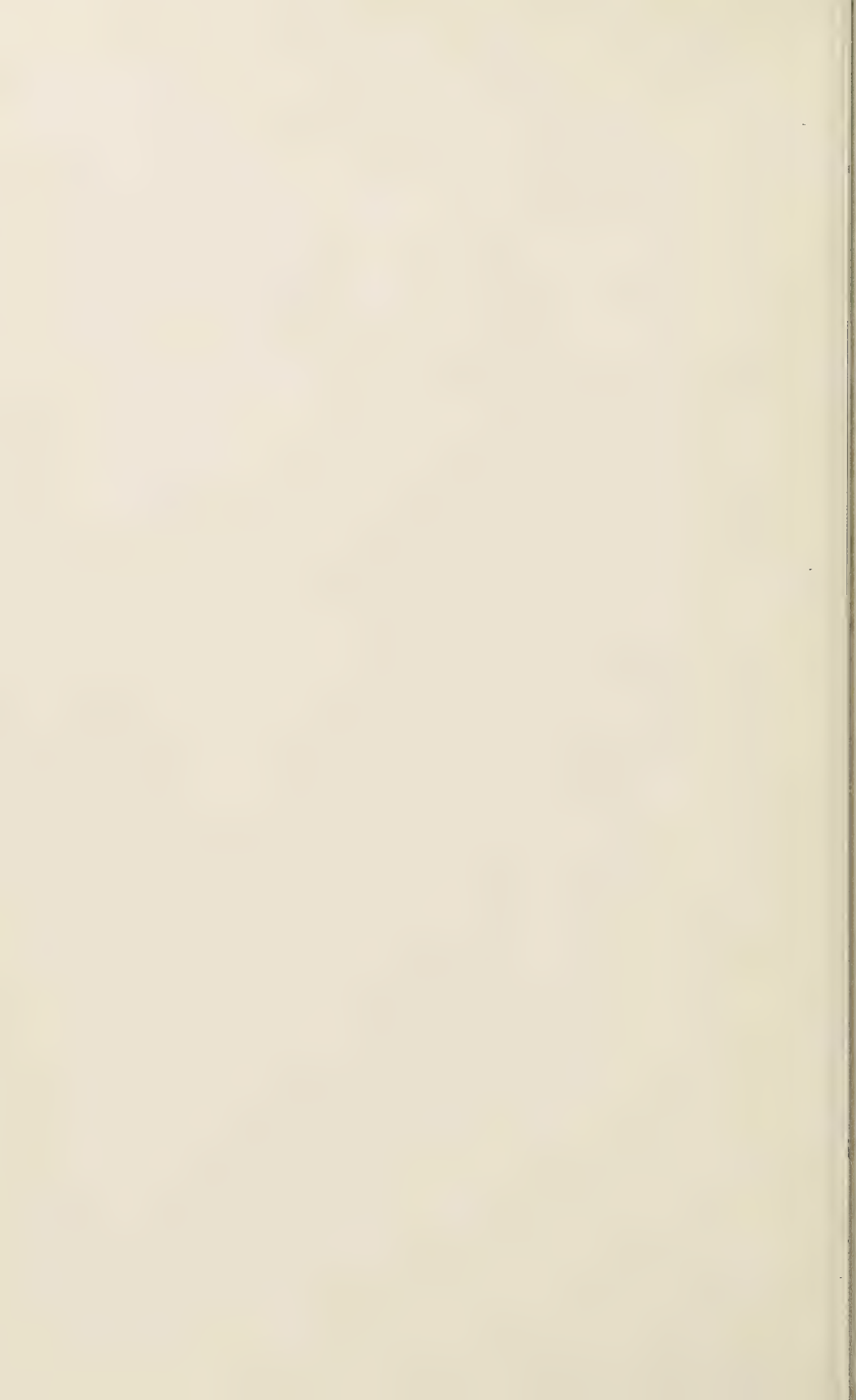


A ma soeur et à mon beau-frère

A mes neveux

A toute ma famille et belle-famille

en témoignage de toute mon affection.

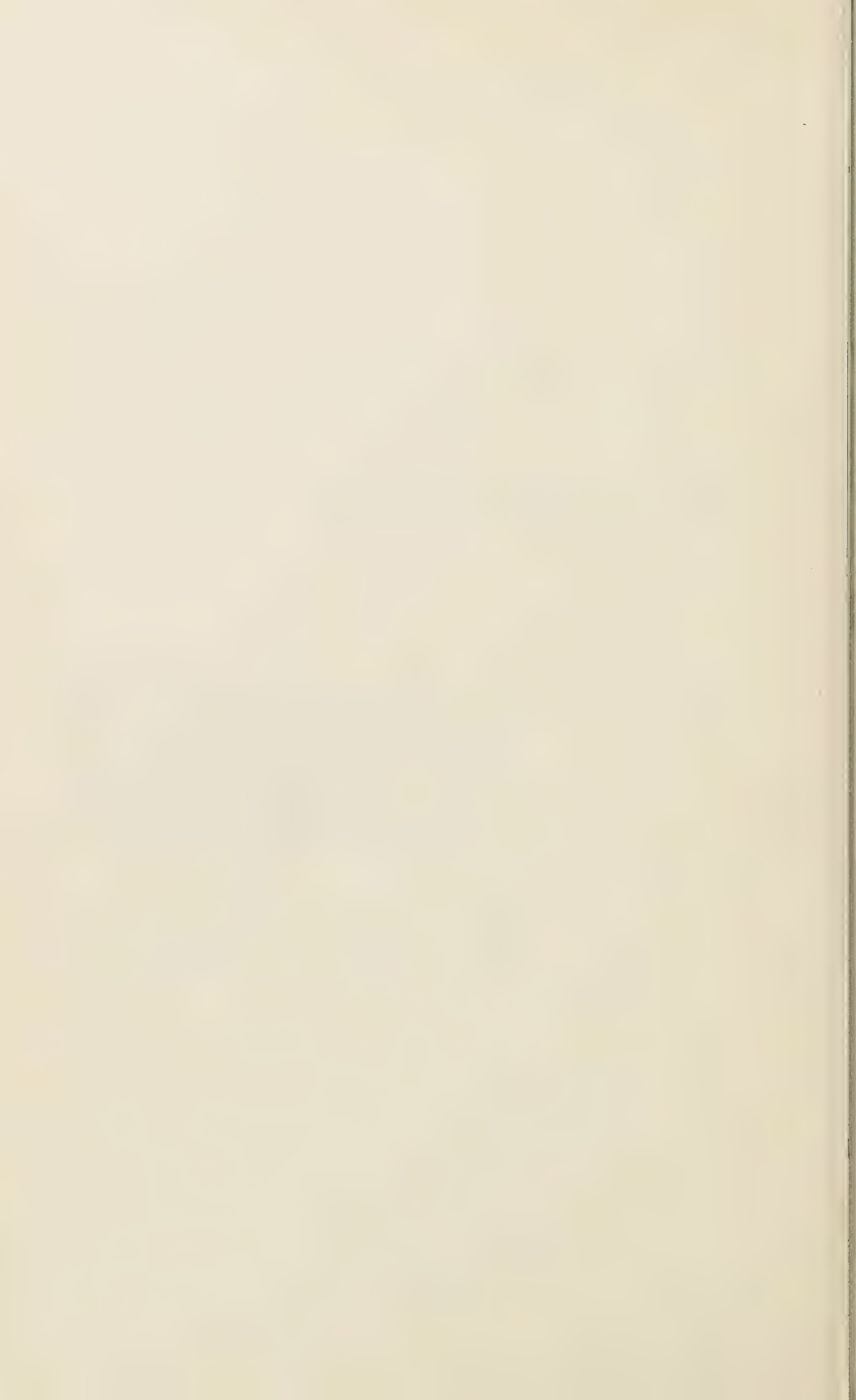


A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE JURY

Monsieur le Professeur P. FEBVRE
Professeur de Pharmacie Galénique.

Nous n'oublierons jamais l'accueil chaleureux et bienveillant qu'il nous a réservé lors de notre arrivée à Clermont-Ferrand, ni l'amitié qu'il nous a, d'emblée témoignée. Un assistantat déjà vieux de cinq ans nous a fait apprécier ses qualités d'enseignant et de chercheur. Il nous a donné, comme thème de recherche, le sujet auquel il tenait le plus.

En hommage de toute notre gratitude et de notre respectueux attachement, nous lui dédions ce travail dont il fut l'inspirateur.



A NOTRE JURY DE THESE

Monsieur le Professeur M. COULET

Professeur de Botanique et de Microbiologie
Assesseur du Doyen

Il fut l'inspirateur de notre deuxième sujet de thèse; nous lui exprimons ici toute notre reconnaissance.

Monsieur le Professeur P. TRONCHE

Professeur de Pharmacie Chimique

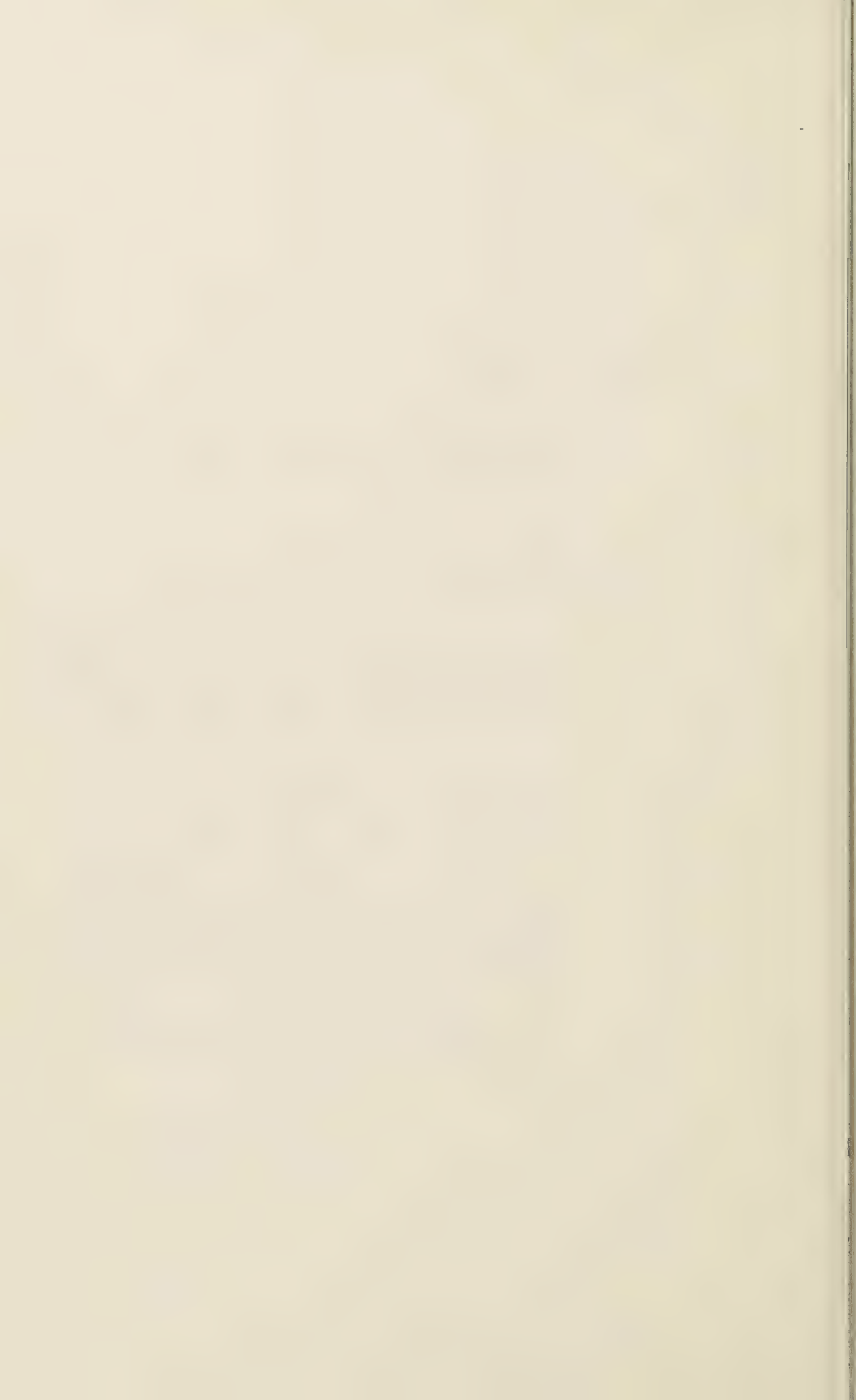
Nous le remercions d'avoir bien voulu accepter de juger cette thèse et nous tenons à lui dire toute notre gratitude pour la bienveillante compréhension qu'il nous a toujours manifestée.

Monsieur le Professeur Cl. MOLINA

Professeur de Clinique Pneumo-Phtisiologique.

En témoignage de la confiance dont il nous a honoré en nous attachant à la Chaire de Clinique Pneumo-Phtisiologique pour nous permettre de poursuivre les recherches commencées quelques années auparavant.

Nous voudrions lui dire toute notre admiration pour le dynamisme constant avec lequel il anime son équipe.

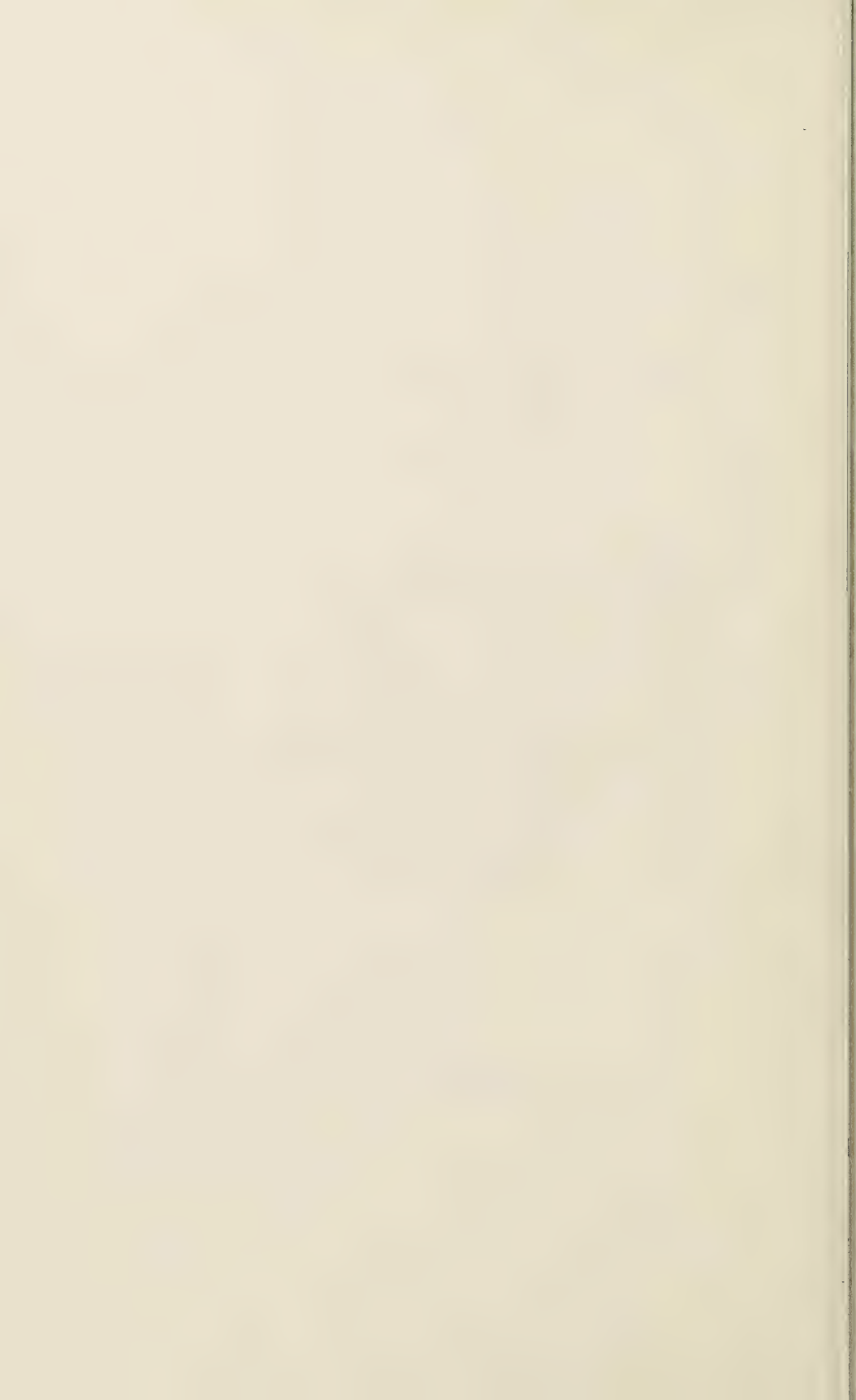


Aux Professeurs,

Professeurs Agrégés et Maîtres de Conférences de la
Faculté de Médecine et de Pharmacie de Clermont-Ferrand.

Monsieur le Doyen MEYNIEL
Monsieur le Professeur BASTIDE
Monsieur le Professeur BERGER
Monsieur le Professeur CLUZEL
Monsieur le Professeur CUVELIER
Monsieur le Professeur DASTUGUE
Monsieur le Professeur DAUPHIN
Monsieur le Professeur DELAGE
Monsieur le Professeur DUCHENE-MARULLAZ
Mademoiselle le Professeur CHATONIER
Madame le Professeur GAILLARD
Monsieur le Professeur MERCIER
Monsieur le Professeur POURRAT
Madame le Professeur POURRAT

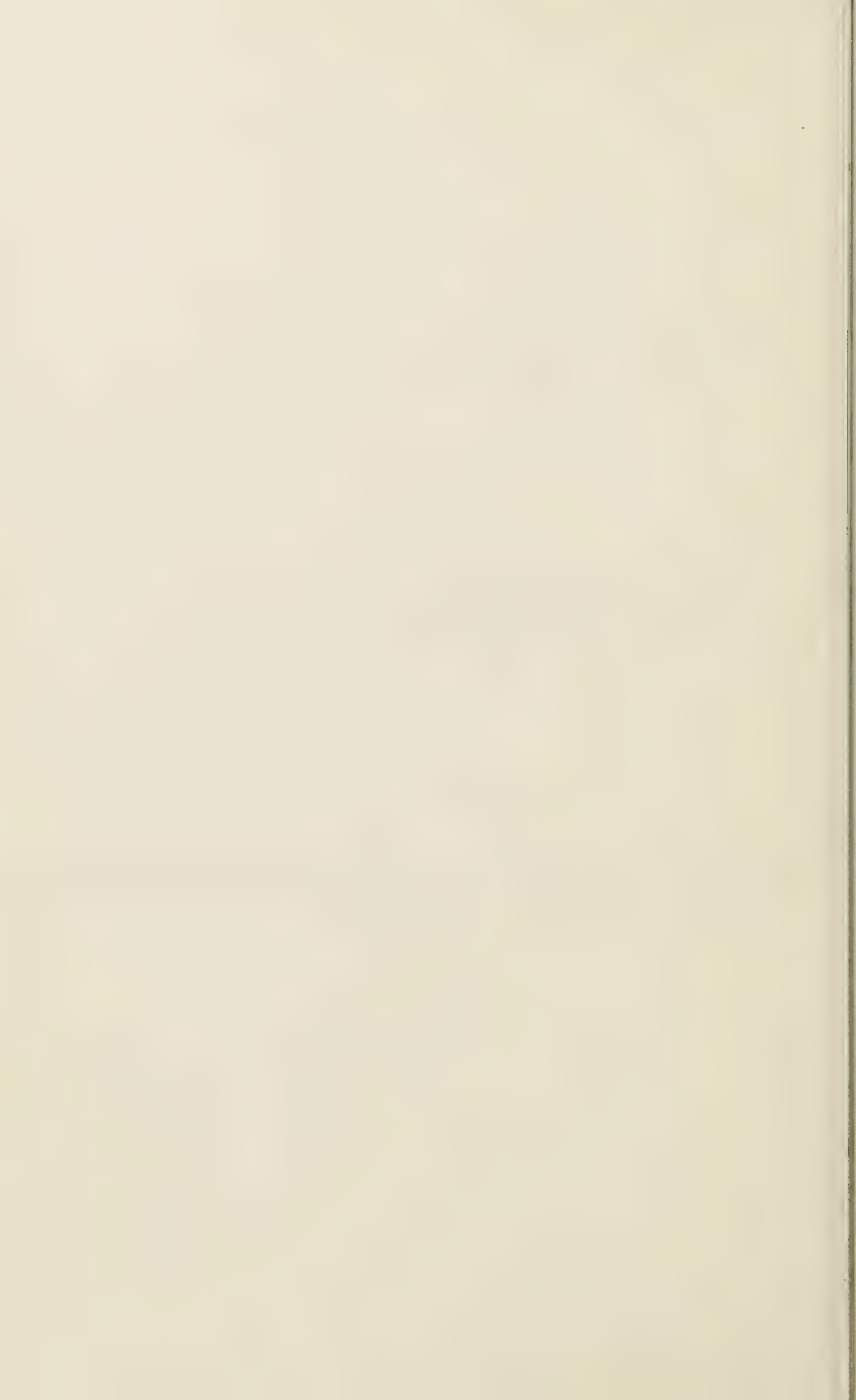
Qu'ils soient remerciés de l'amitié et de l'intérêt
qu'ils nous ont toujours témoignés.



A nos collaborateurs et amis
du Laboratoire de Pharmacie Galénique

Aux Docteurs J. Cl. CHEMINAT et N. PASSEMARD
et à tous nos amis de l'Hôpital Sabourin.

A Monsieur ARCHIMBAUD et à tout le personnel de la bibliothèque
Universitaire de Médecine, pour l'amabilité avec laquelle ils ont
facilité nos recherches bibliographiques.



A nos Maîtres de l'école Algéroise

Monsieur le Professeur A. LACROIX

Professeur d'Hygiène et de Clinique des maladies
des pays chauds.

Qui nous a ouvert la porte de la carrière
universitaire et donné le goût de la recherche.

Monsieur le Professeur CHECHAN

Monsieur le Professeur COLLET

Mademoiselle le Professeur CONSTANT

Monsieur le Professeur FABIANI

Monsieur le Professeur FOURMENT

Monsieur le Professeur GIBERTON

Monsieur le Professeur GILLOT

Monsieur le Professeur GRANGAUD

Monsieur le Professeur JACQUEMIN

Monsieur le Professeur JAHIER

Mademoiselle le Professeur ORFILA

Monsieur le Professeur ROQUES

Monsieur le Professeur ROUZET

Monsieur le Professeur SABON

Monsieur le Professeur STANISLAS

Madame le Professeur VERAÏN

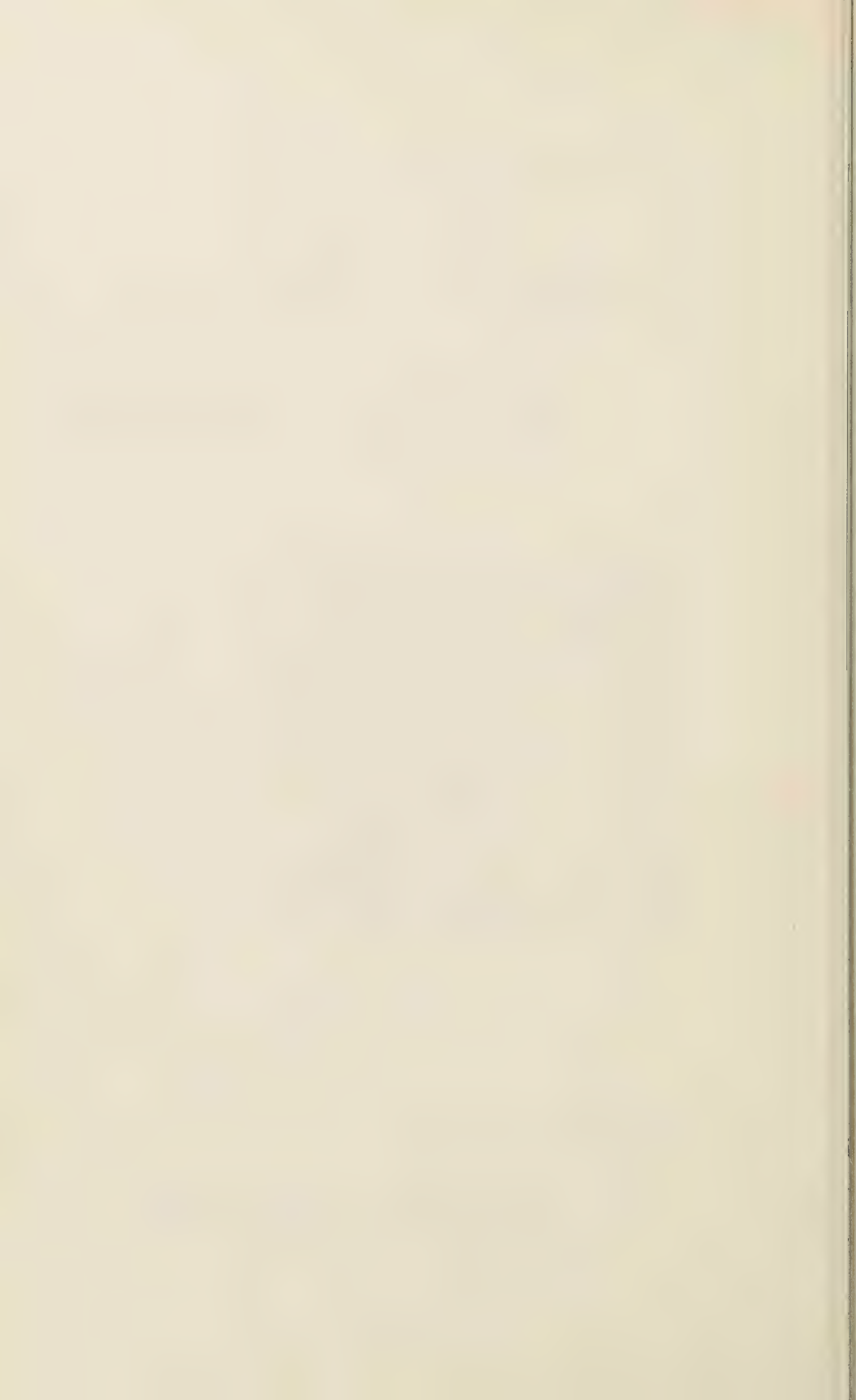
Monsieur le Professeur VIALA.

En hommage respectueux.

A Monsieur R. LACROIX

Pharmacien des Hôpitaux

Nous avons appris à ses côtés, lors de notre
Internat, quel était le rôle et la place du
Pharmacien dans la Biologie.

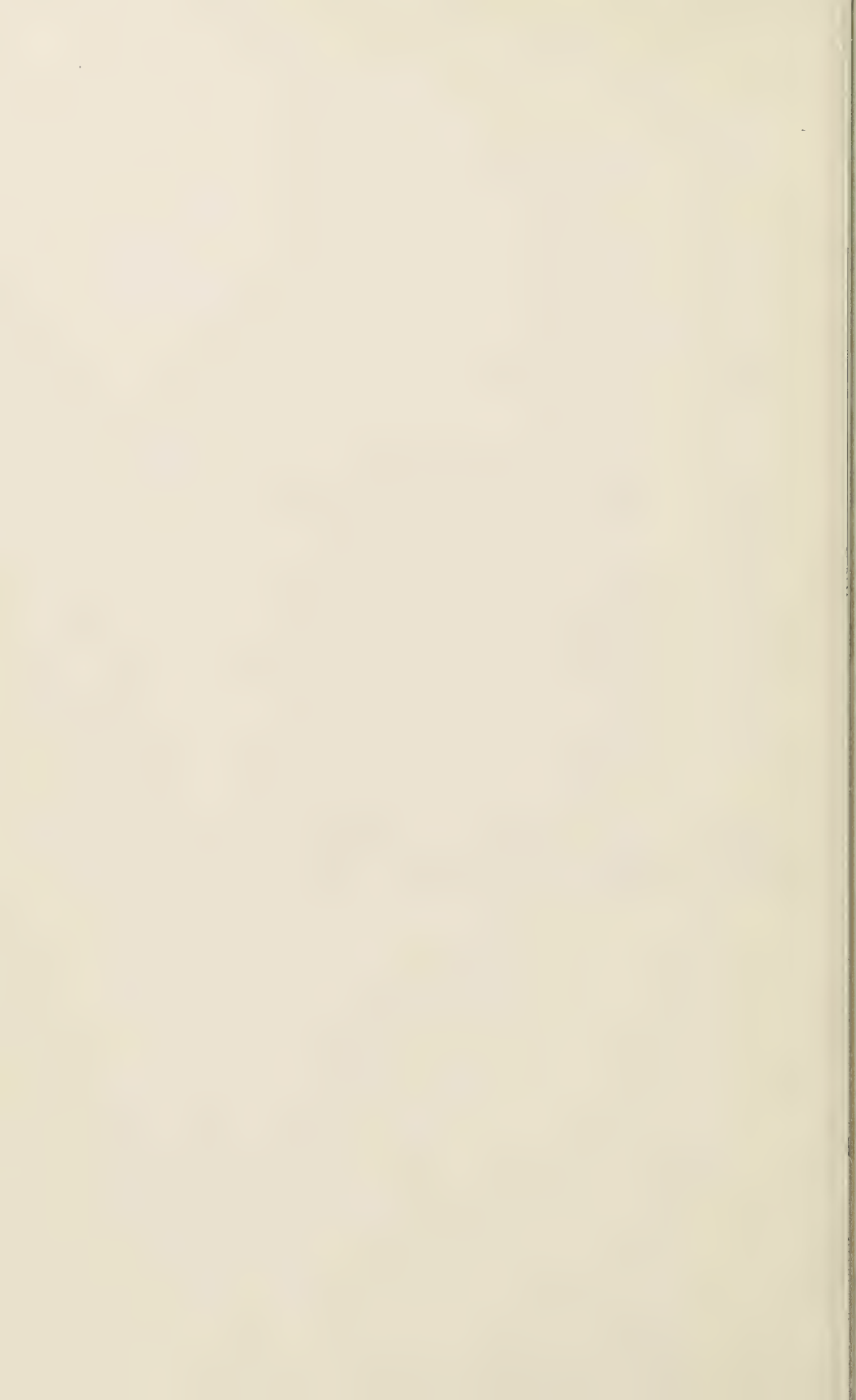


Au Docteur J.C. MONIER

Il ne fut que quelques temps notre supérieur
pour devenir notre plus fidèle ami.

- A tous nos compagnons de promotion.

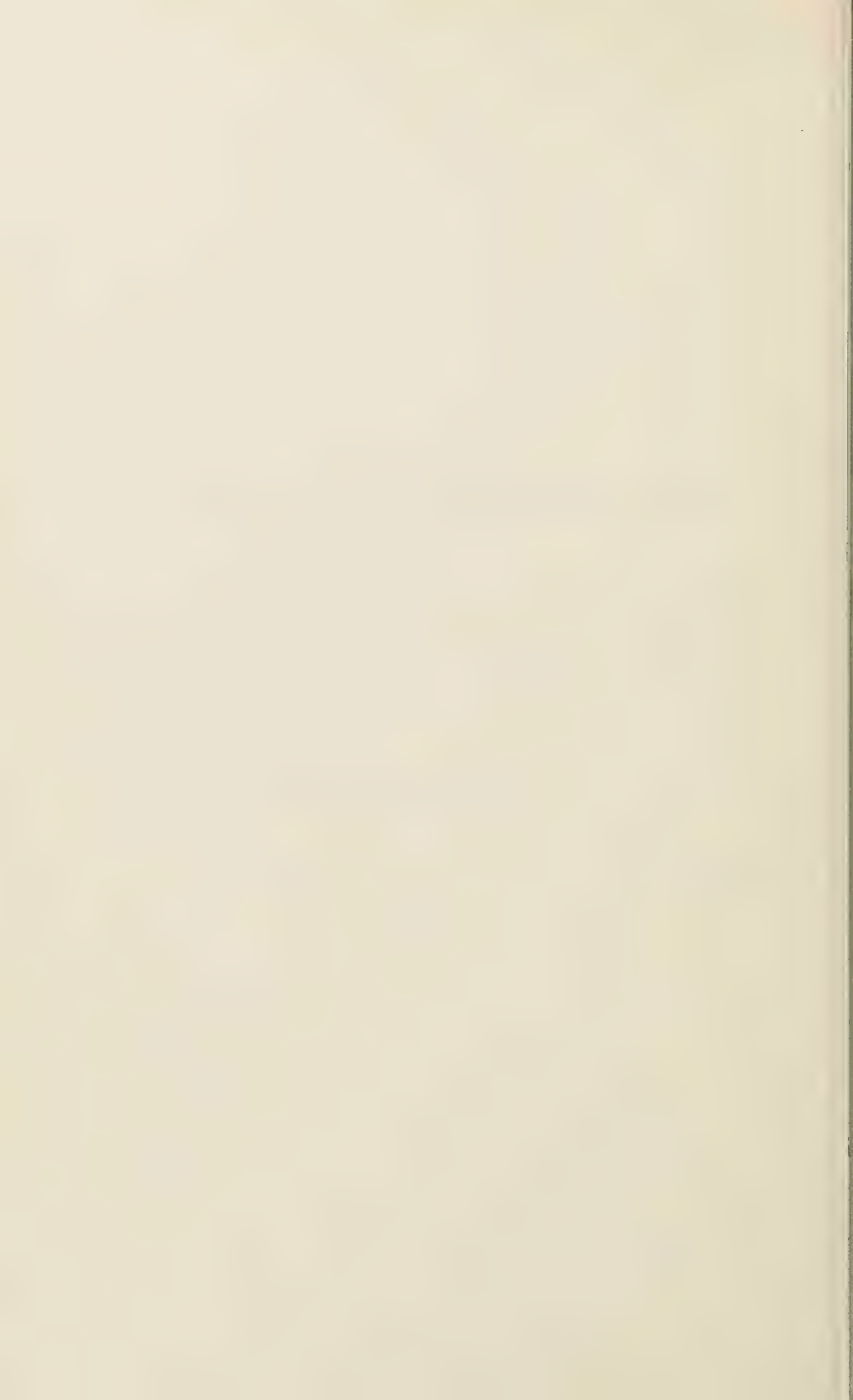
A tous nos amis Clermontois, Montluçonnais, Parisiens
et plus spécialement aux Riomois.



ESSAI D'UNE MÉTHODE D'ANALYSE

DES EXCIPIENTS POUR POMMADES

ET SUPPOSITOIRES



INTRODUCTION

Les excipients pour suppositoires et pommades utilisés comme véhicules de principes actifs ne doivent plus être considérés comme des éléments neutres mais comme des agents actifs car suivant leur nature, l'absorption du médicament par la peau ou les muqueuses sera plus ou moins grande.

En effet, depuis quelques années, le domaine de ces excipients a largement bénéficié des acquisitions apportées par la modernisation des méthodes de fabrication, de présentation, par le développement des moyens d'études pharmacologiques essentiellement de pénétration.

Le problème de l'excipient ne s'est pas d'ailleurs posé brusquement mais c'est plutôt l'évolution de nos conceptions sur la physicochimie et la physiologie cutanée d'une part, qui, associée au progrès d'une certaine industrie l'ont imposé en même temps que les solutions. C'est pratiquement au moment où l'on proclamait que " la peau n'est plus un revêtement inerte voué à un simple rôle de protection " (39) que de nouvelles bases pour pommades, de nouveaux types d'excipients faisaient leur apparition dans les laboratoires spécialisés. Un peu plus tard, la voie rectale étant reconnue par le corps médical comme voie d'administration efficace, de nouveaux excipients pour suppositoires sont venus relayer le très classique beurre de cacao.

Les divers avantages qui découlent de l'utilisation de ces nouvelles bases ont été parfaitement résumés par GRACIANSKY (64) : " il est possible de les choisir comme véhicules d'agents thérapeutiques selon le degré de pénétration dans la peau qui paraît désirable. Leur miscibilité plus parfaite avec les produits qui leur sont incorporés assure à ceux-ci une dispersion plus parfaite et par suite un meilleur contact avec les téguments. Il est possible d'en adapter le pH, ce qui leur confère un rôle correcteur dans les cas où la dermatose à traiter modifie le pH cutané. Leur aspect cosmétique est bien meilleur et offre des possibilités d'adaptation aux peaux sèches ou grasses. Lorsqu'ils sont bien au point, ils se conservent mieux

que certains excipients classiques et leur inertie vis à vis de l'enrobage (tube, pot) peut être plus assurée ".

Cette belle médaille a aussi son revers et l'auteur conclut : " ces avantages ont pour contrepartie la nécessité d'une connaissance beaucoup plus précise à la fois des conditions de la pénétration dans la peau, du comportement des divers excipients par rapport aux téguments, des interrelations possibles entre excipient et produit actif, qui posent des problèmes beaucoup plus complexes que les simples incompatibilités soulevées par les associations entre produits classiques".

Le problème de la composition précise de l'excipient est donc posé. Les différents contrôles par l'étude des constantes chimiques (représentées par les différents indices) ou physiques (solubilité, point de fusion, pH etc...) ne semblent pas être suffisants pour établir valablement la composition d'un excipient. De plus, la plupart des produits commerciaux vendus pour l'usage officinal sont rarement purs et cela explique les déboires de l'utilisateur qui, de bonne foi, utilise des matières premières paraissant " conformes et suivies " (39).

Nous nous sommes donc attachés dans ce travail à élaborer une série de techniques qui, par l'emploi de méthodes rapides et efficaces comme la chromatographie en couches minces et la chromatographie en phase gazeuse, permettraient de séparer et de ranger dans leur famille chimique respective les divers composants de ces nouveaux excipients.

La première partie est consacrée à la classification des différents excipients, tant anciens que modernes, pour pommades et suppositoires. On trouvera aussi leurs principales caractéristiques analytiques.

Dans la seconde partie, nous étudierons les moyens dont nous avons pu disposer pour mener cette étude. C'est ainsi que seront passées en revue les diverses méthodes de chromatographie en couches minces et de chromatographie en phase gazeuse déjà utilisées pour l'analyse des excipients.

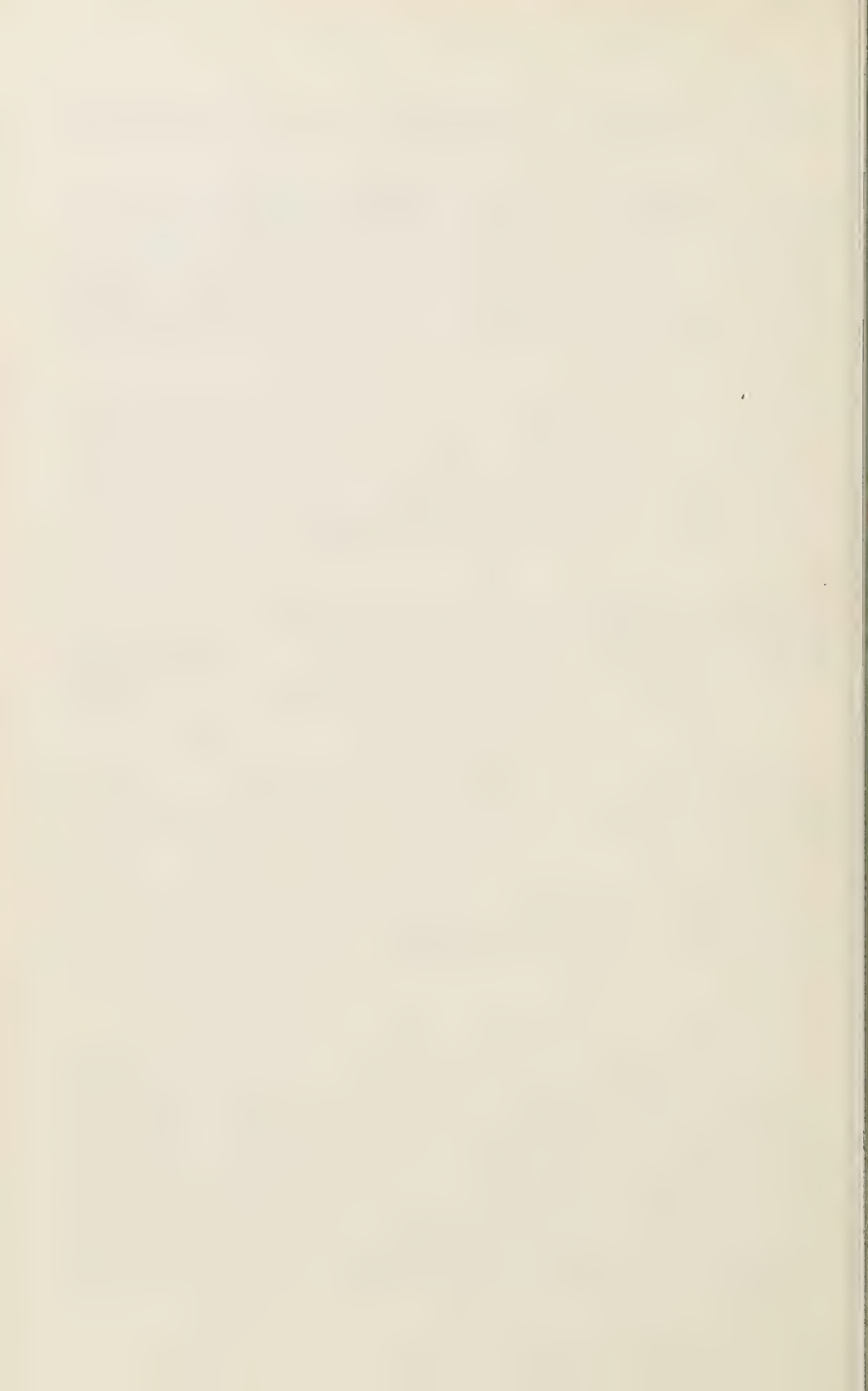
La troisième partie sera consacrée à notre recherche personnelle : on y verra comment à partir d'un excipient donné on peut, par l'utilisation de la chromatographie en couches minces sur gel de silice fluorescente, au moyen de solvants classiques, procéder par élimination pour la recherche et l'identification des divers composants de cet excipient. Cette enquête préalable menée rapidement sur deux ou trois chromatoplaques sera complétée après répartition des différents éléments dans leur groupement caractéristique par la récupération, soit par l'application directe de la chromatographie analytique en technique préparative, soit au moyen d'une extraction par différents solvants en vue d'une identification plus complète et plus précise. Les différentes techniques mises en oeuvre sont ainsi exposées.

Certains éléments seront enfin analysés au moyen de la chromatographie en phase gazeuse.

Dans un dernier chapitre sera esquissée une méthode générale d'analyse des excipients complexes : une série de tableaux synoptiques permettra de plus d'orienter rapidement les recherches.

Qu'il nous soit permis en terminant cette introduction de remercier les différents fabricants d'excipients cités dans le texte qui nous ont largement aidé en nous fournissant la matière première.

1. 2. 3. 4. 5. 6. 7. 8. 9. 10. 11. 12. 13. 14. 15. 16. 17. 18. 19. 20. 21. 22. 23. 24. 25. 26. 27. 28. 29. 30. 31. 32. 33. 34. 35. 36. 37. 38. 39. 40. 41. 42. 43. 44. 45. 46. 47. 48. 49. 50. 51. 52. 53. 54. 55. 56. 57. 58. 59. 60. 61. 62. 63. 64. 65. 66. 67. 68. 69. 70. 71. 72. 73. 74. 75. 76. 77. 78. 79. 80. 81. 82. 83. 84. 85. 86. 87. 88. 89. 90. 91. 92. 93. 94. 95. 96. 97. 98. 99. 100. 101. 102. 103. 104. 105. 106. 107. 108. 109. 110. 111. 112. 113. 114. 115. 116. 117. 118. 119. 120. 121. 122. 123. 124. 125. 126. 127. 128. 129. 130. 131. 132. 133. 134. 135. 136. 137. 138. 139. 140. 141. 142. 143. 144. 145. 146. 147. 148. 149. 150. 151. 152. 153. 154. 155. 156. 157. 158. 159. 160. 161. 162. 163. 164. 165. 166. 167. 168. 169. 170. 171. 172. 173. 174. 175. 176. 177. 178. 179. 180. 181. 182. 183. 184. 185. 186. 187. 188. 189. 190. 191. 192. 193. 194. 195. 196. 197. 198. 199. 200. 201. 202. 203. 204. 205. 206. 207. 208. 209. 210. 211. 212. 213. 214. 215. 216. 217. 218. 219. 220. 221. 222. 223. 224. 225. 226. 227. 228. 229. 230. 231. 232. 233. 234. 235. 236. 237. 238. 239. 240. 241. 242. 243. 244. 245. 246. 247. 248. 249. 250. 251. 252. 253. 254. 255. 256. 257. 258. 259. 260. 261. 262. 263. 264. 265. 266. 267. 268. 269. 270. 271. 272. 273. 274. 275. 276. 277. 278. 279. 280. 281. 282. 283. 284. 285. 286. 287. 288. 289. 290. 291. 292. 293. 294. 295. 296. 297. 298. 299. 300. 301. 302. 303. 304. 305. 306. 307. 308. 309. 310. 311. 312. 313. 314. 315. 316. 317. 318. 319. 320. 321. 322. 323. 324. 325. 326. 327. 328. 329. 330. 331. 332. 333. 334. 335. 336. 337. 338. 339. 340. 341. 342. 343. 344. 345. 346. 347. 348. 349. 350. 351. 352. 353. 354. 355. 356. 357. 358. 359. 360. 361. 362. 363. 364. 365. 366. 367. 368. 369. 370. 371. 372. 373. 374. 375. 376. 377. 378. 379. 380. 381. 382. 383. 384. 385. 386. 387. 388. 389. 390. 391. 392. 393. 394. 395. 396. 397. 398. 399. 400. 401. 402. 403. 404. 405. 406. 407. 408. 409. 410. 411. 412. 413. 414. 415. 416. 417. 418. 419. 420. 421. 422. 423. 424. 425. 426. 427. 428. 429. 430. 431. 432. 433. 434. 435. 436. 437. 438. 439. 440. 441. 442. 443. 444. 445. 446. 447. 448. 449. 450. 451. 452. 453. 454. 455. 456. 457. 458. 459. 460. 461. 462. 463. 464. 465. 466. 467. 468. 469. 470. 471. 472. 473. 474. 475. 476. 477. 478. 479. 480. 481. 482. 483. 484. 485. 486. 487. 488. 489. 490. 491. 492. 493. 494. 495. 496. 497. 498. 499. 500. 501. 502. 503. 504. 505. 506. 507. 508. 509. 510. 511. 512. 513. 514. 515. 516. 517. 518. 519. 520. 521. 522. 523. 524. 525. 526. 527. 528. 529. 530. 531. 532. 533. 534. 535. 536. 537. 538. 539. 540. 541. 542. 543. 544. 545. 546. 547. 548. 549. 550. 551. 552. 553. 554. 555. 556. 557. 558. 559. 560. 561. 562. 563. 564. 565. 566. 567. 568. 569. 570. 571. 572. 573. 574. 575. 576. 577. 578. 579. 580. 581. 582. 583. 584. 585. 586. 587. 588. 589. 590. 591. 592. 593. 594. 595. 596. 597. 598. 599. 600. 601. 602. 603. 604. 605. 606. 607. 608. 609. 610. 611. 612. 613. 614. 615. 616. 617. 618. 619. 620. 621. 622. 623. 624. 625. 626. 627. 628. 629. 630. 631. 632. 633. 634. 635. 636. 637. 638. 639. 640. 641. 642. 643. 644. 645. 646. 647. 648. 649. 650. 651. 652. 653. 654. 655. 656. 657. 658. 659. 660. 661. 662. 663. 664. 665. 666. 667. 668. 669. 670. 671. 672. 673. 674. 675. 676. 677. 678. 679. 680. 681. 682. 683. 684. 685. 686. 687. 688. 689. 690. 691. 692. 693. 694. 695. 696. 697. 698. 699. 700. 701. 702. 703. 704. 705. 706. 707. 708. 709. 710. 711. 712. 713. 714. 715. 716. 717. 718. 719. 720. 721. 722. 723. 724. 725. 726. 727. 728. 729. 730. 731. 732. 733. 734. 735. 736. 737. 738. 739. 740. 741. 742. 743. 744. 745. 746. 747. 748. 749. 750. 751. 752. 753. 754. 755. 756. 757. 758. 759. 760. 761. 762. 763. 764. 765. 766. 767. 768. 769. 770. 771. 772. 773. 774. 775. 776. 777. 778. 779. 780. 781. 782. 783. 784. 785. 786. 787. 788. 789. 790. 791. 792. 793. 794. 795. 796. 797. 798. 799. 800. 801. 802. 803. 804. 805. 806. 807. 808. 809. 810. 811. 812. 813. 814. 815. 816. 817. 818. 819. 820. 821. 822. 823. 824. 825. 826. 827. 828. 829. 830. 831. 832. 833. 834. 835. 836. 837. 838. 839. 840.



PREMIERE PARTIE

CLASSIFICATION ET ETUDE
DES EXCIPIENTS

Il serait fastidieux d'étudier séparément les différents excipients d'abord pour les pommades et ensuite pour les suppositoires. Si l'on excepte les anciens excipients, toujours au goût du jour puisque nos confrères à l'officine les utilisent couramment, les excipients modernes appartiennent pour ces deux classes de médicaments aux mêmes familles chimiques, ne différant toutefois que par leur consistance propre, bien que l'usage de nouvelles formes galéniques comme la capsule rectale supprime totalement cette barrière et cette différence.

Aussi allons-nous passer en revue les anciens excipients on pourra au passage les associer facilement à la forme pharmaceutique à laquelle ils sont destinés.

[illegible]

C H A P I T R E I

LES EXCIPIENTS ANCIENS

De nombreux corps furent utilisés comme excipients :

- des corps d'origine végétale : Beurre de cacao
- des corps d'origine animale : Axonge, Lanoline, Cire d'abeille, Blanc de baleine.
- des corps d'origine minérale : Vaseline, Paraffine.

Nous allons, dans ce chapitre, donner les caractéristiques principales des différents produits encore utilisés seuls ou en mélange dans les suppositoires ou les pommades.

A - BEURRE DE CACAO -

Il est toujours inscrit à la Pharmacopée Française de 1965 qui le définit comme le " produit retiré par expression à chaud de la graine du Theobroma Cacao (Sterculiacés).

Est-il nécessaire de rappeler ses principaux caractères physico-chimiques ? :

Il se présente généralement en pains rectangulaires de consistance dure, à cassure cireuse. Il est légèrement brillant, onctueux au toucher, à saveur douce et odeur agréable de chocolat. Il est peu soluble dans l'alcool absolu (1/20) mais très soluble dans l'éther éthylique, le chloroforme, l'éther de pétrole, l'hexane.

Il fond à une température voisine de 35° et son indice de saponification varie de 192 à 200 nous indique le Codex. (En vérité, selon l'échantillon et surtout selon la quantité de produit utilisé pour l'essai cet indice peut varier de 185 à 210). Son indice d'acide doit être au plus égal à 1,5;

Sa composition : il est formé essentiellement de triglycérides mixtes oléopalmitostéariques et la répartition interne des acides gras a été très étudiée et très discutée (11 - 12 - 18 - 21 - 35 - 36 - 37 - 48 - 50 - 72 - 94 - 132 - 166 - 167 - 168 - 172 - 180 - 181 - 182 - 206 - 207).

Ses usages ; c'est encore un excipient très utilisé. Sa zone de ramollissement assez courte, son faible indice d'acide, sa bonne tolérance expliquent bien la fidélité des Pharmaciens à son égard.

En contre-partie, il est absolument hydro-insoluble, n'absorbe pas d'eau et ne s'émulsionne pas dans le milieu intestinal. De même, toute surchauffe au-dessus de 36° lui fait perdre sa forme stable α au profit de la forme β instable (25).

B - L'AXONGE -

C'est la substance grasse que l'on retire du tissu graisseux situé autour des reins ainsi que de la panne du porc.

C'est une graisse blanche, molle, homogène, d'odeur spéciale.

Elle est insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, très soluble dans l'éther éthylique, le chloroforme, l'hexane.

Elle est constituée par des esters de la glycérine : oléine, linoléine, palmitine, stéarine.

Elle n'est plus très utilisée actuellement en raison de son trop rapide rancissement ; d'ailleurs le Codex 1965 ne l'a pas maintenue.

C - LA LANOLEINE -

C'est la graisse du suint du mouton dont elle est extraite lors du lavage industriel de la laine brute.

C'est une masse jaunâtre, d'odeur particulière, soluble dans le chloroforme, l'éther éthylique. Quoique insoluble dans l'eau, elle possède la remarquable propriété d'absorber au moins 2 fois son poids d'eau en donnant une émulsion consistante parfaitement homogène.

Sa composition : elle peut être considérée comme une cire, essentiellement formée d'esters de hauts poids moléculaires (129). Les acides entrant dans la composition de ces esters sont,

pour la plupart, des acides α alcools dérivant des acides gras classiques (laurique, myristique, palmitique et stéarique) ou des acides gras normaux de C₁₀ à C₂₆ (lanocérique, cérotique, lanopalmique). Les alcools sont soit des alcools aliphatiques normaux (alcool cétylique) soit des stérols (le Cholestérol, le Cholestanol), soit des alcools triterpéniques (Lanostol, Déhydrolanostol, Agnostol etc...). Elle renferme aussi environ 4 % d'alcool libre (Cholestérol).

Ses usages : elle est encore assez utilisée en raison de ses propriétés hydrophiles et de sa bonne tolérance. On l'emploie souvent comme base dans certaines crèmes qui renferment une grande quantité d'eau ou bien mélangée à la vaseline, pour la rendre plus molle dans certaines pommades.

Des fabricants ont pensé à mettre au point un succédané de la Lanoline. Ainsi, un excipient tout récemment commercialisé sous le nom de Lanose + a pu, associé à la vaseline, être substitué dans plusieurs préparations au mélange lano-vaseline rencontré dans la plupart des pommades d'usage courant.

Le " Lanose " présente en effet, du point de vue physicochimique, des analogies étroites avec la Lanoline : c'est une masse pâteuse, de consistance filante, de couleur jaune ambré, d'odeur faible à nulle. Il est constitué aussi d'esters complexes de polyalcools.

Comme la lanoline, il est soluble dans l'éther, le benzène, insoluble dans l'eau mais peut absorber environ deux fois son poids d'eau sous forme d'émulsion à phase continue huileuse.

Du point de vue galénique et technologique, il apparaît que la manipulation de Lanose est plus aisée que celle de la Lanoline (16) ; en outre, il permet la préparation de pommades plus facilement homogènes, plus fluides, possédant de plus, une meilleure pénétration que le mélange Lanoline - Vaseline (16).

D - LA CIRE BLANCHE -

C'est la cire obtenue après purification de la cire d'abeille. Elle se présente sous forme de disques réguliers de 8 à 10cm de diamètre, de couleur blanc mat, d'odeur caractéristique.

Ses propriétés émollientes la font utiliser dans la préparation des pommades, des cérats cosmétiques (en mélange avec des huiles) et dans les suppositoires.

Elle est peu soluble dans l'alcool et l'éther mais soluble dans le Benzène.

Sa composition est très complexe : elle renferme 10 à 14 % d'Hydrocarbures saturés ou insaturés, 60 % d'esters saturés ou insaturés d'acides gras et d'alcools gras, des hydroxyesters, des alcools et acides gras libres (31 - 202).

E - LES HUILES VEGETALES. -

Il nous a paru inutile d'en faire ici l'énumération.

Il faut simplement signaler qu'elles sont formées principalement de triglycérides de divers acides gras suivant leur origine.

F - LE BLANC DE BALEINE -

C'est la masse cireuse extraite soit d'une cavité située au-dessus de la narine droite, soit des tissus adipeux du cachalot (Physeter Macrocephalus-Cétacés).

C'est une substance blanche solide, légère, d'aspect cristallin, onctueuse au toucher, à odeur faible. Elle est insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool et soluble dans l'éther éthylique et le sulfure de carbone.

Le blanc de baleine est constitué surtout d'esters d'acides gras et d'alcool gras (90 %) (en particulier la Cétine ou Palmitate de Cétyle) (29-203), de glycérides (5 %) (29) et de quelques hydrocarbures (0,1 %) (C₁₄ à C₁₈) (29 - 30 - 203).

Il sert surtout d'émollient et entre dans la composition de divers cérats.

G - LA VASELINE -

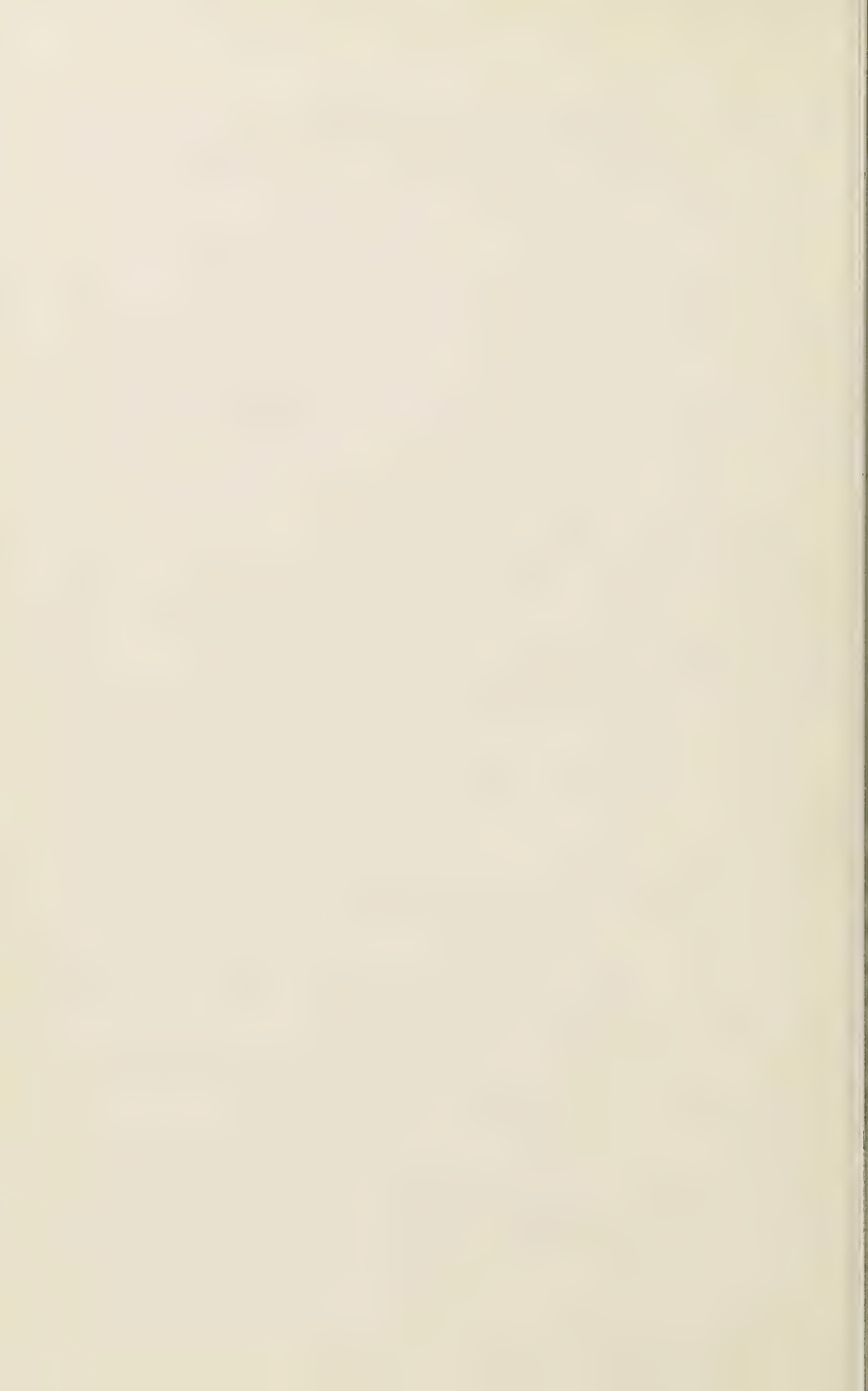
Elle est définie au Codex comme provenant des résidus de la distillation des pétroles d'Amérique.

C'est une substance blanche, translucide, de consistance molle, neutre, inodore et insipide.

Elle est insoluble dans l'eau, peu soluble dans l'alcool, soluble dans les solvants organiques.

La vaseline est constituée par des Hydrocarbures saturés de poids moléculaires élevés, de formule C_nH_{2n+2} .

Elle ne rancit pas, c'est pourquoi on la préfère à l'Axonge: mais son principal inconvénient est qu'elle n'est pas miscible à l'eau. Comme précédemment pour la Lanoline, on la mélange à cette dernière, non plus pour avoir une pommade onctueuse mais pour



CHAPITRE II

LES EXCIPIENTS MODERNES

Dans la nouvelle édition de la Pharmacopée Française se trouve inscrite une grande variété d'excipients pour pommades et suppositoires. Et, de cette façon, si le Dermatologue peut prescrire la préparation la plus appropriée à l'affection qu'il désire soigner, par contre les fabricants de matières premières et de produits finis devront se plier aux règles ainsi formulées.

Aussi n'est-il pas dépourvu d'intérêt d'étudier ces nouveaux excipients.

Ils seront classés suivant les propriétés physiques et chimiques qui nous ont servi à les étudier et les séparer et non suivant leur destination galénique, c'est à dire base pour pommades et suppositoires, car comme nous l'avons déjà précisé la limite est difficile à établir.

Classiquement, on avait l'habitude de distinguer justement au moyen des propriétés physico-chimiques :

- les excipients anhydres
- les excipients hydratés
- les excipients émulsionnés.

Pour notre part, il nous a semblé plus logique de les apparenter suivant leur comportement au cours de l'analyse mais toujours naturellement en fonction de leurs propriétés physicochimiques.

Le premier groupe de ces excipients sera pour nous le groupe :

A - des EXCIPIENTS GRAS ou NON GRAS, HYDROSOLUBLES ou SUSCEPTIBLES de s'EMULSIONNER, de composition diverse, utilisés seuls ou associés avec des excipients classiques ou nouveaux.

Seront inclus ici, à côté des Poly-Ethylène-Glycols, des produits appelés " agents de surface " qui ne sont pas des excipients à proprement parler mais qui permettent de préparer des émulsions de base pour pommades et suppositoires. Parmi eux, citons :

- les esters gras des glycols et des poly-éthylène-glycols.
- les Tweens
- les Spans.

Notre second groupe est le groupe :

B - des EXCIPIENTS GRAS, PLUS OU MOINS HYDRODISPERSIBLES, formés essentiellement de glycérides naturels ou de synthèse.

Seront classés dans ce groupe les glycérides semi-synthétiques et les glycérides oléiques poly-oxy-éthylénés ainsi nommés par le Codex 1965.

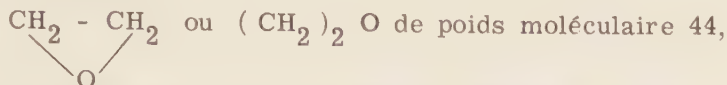
A - EXCIPIENTS HYDROSOLUBLES ou SUSCEPTIBLES de S'EMULSIONNER

I - Les dérivés des Glycols.

Ce sont les Poly-Ethylène-Glycols ou Poly-Oxy-Ethylène-Glycols qui sont apparus à la Pharmacopée Française de 1965. Leurs noms commerciaux sont :

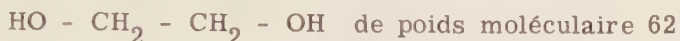
Polyglycols
Carbowax
Nycolline
Siviline.

La base de la formation de tous les éthylène-glycols est l'oxyde d'éthylène :



composé qui présente un grand intérêt chimique car il est très réactif et, par ouverture de son cycle, forme volontiers des chaînes additives dans lesquelles se répète le motif $-\text{CH}_2 - \text{CH}_2 - \text{O}-$.

A partir de l'oxyde d'éthylène et de l'eau, on obtient tout d'abord : l'éthylène-glycol :

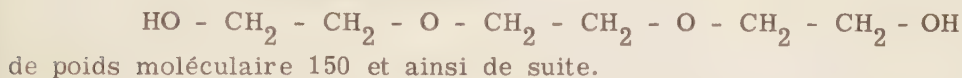


puis de proche en proche :

le Diéthylène-glycol :



le Triéthylène-glycol :



La formule générale de ces polyglycols est donc la suivante :



A titre d'exemple, pour les polyglycols 1.000 et 6.000 les valeurs respectives de n sont 21 et 135. Le nombre total des motifs Oxyde d'éthylène entrant dans la structure de la molécule, c'est-à-dire le nombre n de la formule ci-dessus augmenté d'une unité est appelé degré de polymérisation.

Comme tous les hauts polymères, les poly-éthylène-glycols ne constituent pas des composés homogènes mais des mélanges de polymères homologues très voisins, étant donné que les divers stades de polymérisation des molécules se chevauchent au cours de la fabrication. Chaque Poly-éthylène-glycol se caractérise par son poids moléculaire moyen, déduit de l'indice d'hydroxyle que l'on peut déterminer exactement (Tableaux I et II).

TABLEAU I
ASPECT ET COMPORTEMENT PHYSIQUES

| TYPE DE
POLY-ETHYLENE-
GLYCOLS | CONSISTANCE ET AUTRES
PARTICULARITES EXTERIEURES | |
|---|---|--|
| 200 {
300 {

400 {
600 { | Liquides visqueux, pratiquement incolores, limpides, modérément hygroscopiques et de faible odeur caractéristique.

Elévation de la température de solidification et de la viscosité mais réduction de l'hygroscopicité à mesure que le poids moléculaire augmente. | |
| 1000

1500 | Solide avec consistance de cire molle

Solide avec consistance de cire d'abeille | { les deux types

sont faiblement

hygroscopiques. |
| 2000
4000
6000
10000
15000
20000 | Les types 2 000 et au-delà sont solides et ont la consistance de cires d'autant plus dures que leur poids moléculaire est plus élevé.

Ils sont livrés en écailles blanches faciles à manipuler et à dissoudre.

A partir du type 4000 les Poly-Ethylène-Glycols ne sont pratiquement plus hygroscopiques.

La viscosité de leurs solutions aqueuses s'accroît fortement avec le poids moléculaire. | |

D'après FARBWERKE HOECHST AG. (73).

TABLEAU II
CARACTERISTIQUES NUMERIQUES
DES POLYGLYCOLS

| TYPE | POIDS
MOLECULAIRE | POINT DE
CONGELATION
EN ° C | VISCOSITE à 25° C en C Po
DU PRODUIT
NON DILUE | DE LA
SOLUTION
AQUEUSE A
50 % | INDICE
D'HYDROXYLE
EN mg K OH/g |
|--------|----------------------|-----------------------------------|--|--|---------------------------------------|
| 200 | 190-210 | environ - 50 | 46 - 53 | | 533 - 589 |
| 300 | 285-315 | - 16 à - 12 | 66 - 74 | | 356 - 392 |
| 400 | 380-420 | + 2 à + 6 | 85 - 95 | | 271 - 299 |
| 600 | 570-630 | 17 - 22 | 130 - 150 | 13 - 15 | 178 - 197 |
| 1000 | 950-1050 | 35 - 40 | | 18 - 22 | 107 - 118 |
| 1500 | 1400-1600 | 44 - 48 | | 29 - 34 | 70 - 80 |
| 2000 | 1900-2200 | 48 - 52 | | 40 - 48 | 51 - 59 |
| 4000 | 3900-4800 | 53 - 58 | | 90 - 120 | 23 - 29 |
| 6000 | 5600-7000 | 55 - 60 | | 170 - 220 | 16 - 20 |
| 10 000 | 8500 - 11 500 | 55 - 60 | | 400 - 600 | 9,6 - 13,0 |
| 15 000 | 13 000-17 000 | environ 60 | | 1000 - 1500 | 6,6 - 8,6 |
| 20 000 | 17 000 | environ 60 | | 2 000 | 6,5 |

D'après FARBWERKE HOECHST AG. (73).

La propriété la plus remarquable des polyglycols, y compris ceux d'une consistance de cire dure, est leur solubilité dans l'eau. Ils sont tous facilement miscibles entre eux : c'est ainsi qu'il est possible d'obtenir, à partir de types disponibles, tout autre type intermédiaire s'inscrivant dans la même gamme. Les produits ainsi obtenus présentent dans un large intervalle de températures, une consistance onctueuse très favorable à l'étalement. Parmi les nombreuses combinaisons possibles, les mélanges simples suivants sont appréciés en tant qu'excipients pour pommades d'usage pharmaceutique et sont même recommandés par certaines pharmacopées ou formulaires de prescriptions magistrales :

- Onguent de poly-éthylène-glycols de la D.A.B. 6 qui est un mélange de poly-éthylène-glycols 300 et 1500 (50 % en poids).
- Onguent de poly-éthylène-glycols de l'U.S.P. XVI composé de :
 poly-éthylène-glycol 400 (60 %)
 poly-éthylène-glycol 4000 (40 %).
- Onguent de poly-éthylène-glycols P.M. (formule extraite des prescriptions magistrales de l'Association des Pharmaciens Suisses) :
 poly-éthylène-glycol 400 (47,5 %)
 poly-éthylène-glycol 4000 (47,5 %)
 alcool éthylique (5 %).

Ces formules sont préparées en mélangeant les constituants chauffés au bain-marie puis en brassant soigneusement jusqu'à complet refroidissement et même quelques temps après.

PROPRIETES CHIMIQUES :

Par leurs deux groupes hydroxyle d'extrémité de chaîne, les Polyglycols ont les propriétés des alcools primaires : ils sont notamment estérifiables et éthérifiables. Ils ne sont pas saponifiables du fait de leur constitution chimique.

Ils sont très solubles dans l'eau, les alcools, les esters, les cétones, les hydrocarbures chlorés mais insolubles dans les carbures aliphatiques et dans l'éther.

Avec les huiles minérales et végétales, les poly-éthylène-glycols sont incompatibles en ce sens que les mélanges obtenus ne sont ni stables ni homogènes.

Enfin, leur tolérance physiologique est excellente (58-173) bien qu'on ait pu dire qu'ils étaient irritants pour la muqueuse rectale, provoquant parfois une sensation de brûlure avec élimination réflexe du suppositoire (63).

II - Les agents de surface .

Quelques mots de généralités sur les émulsions.

Les Agents de Surface appelés aussi Surfactifs, émulsifiants, émulseurs, agents tensio-actifs, mouillants ont un rôle très important lorsque deux phases non miscibles sont en présence : ils permettent le mélange hétérogène de ces deux phases : l'une est la phase dispersée qui est discontinue, l'autre est la phase continue.

C'est une émulsion qui est ainsi obtenue et deux types d'émulsion sont possibles :

- émulsion huile dans eau où l'huile est la phase dispersée,
- émulsion eau dans huile où l'eau est la phase dispersée.

L'émulsifiant ajouté aux phases provoque l'apparition d'un film monomoléculaire. Ce film disposé à la surface commune des deux phases est formé de molécules orientées : l'extrémité lipophile de la molécule vers la phase huileuse, l'extrémité hydrophile vers la phase aqueuse.

Les molécules de surfactifs sont donc dissymétriques, l'une des extrémités est hydrophobe (elle est constituée d'une chaîne carbonée toujours longue, à faible affinité chimique, généralement empruntée à un hydrocarbure), l'autre est hydrophile (elle est formée de groupe polaire à haute affinité chimique : $\text{SO}_3 \text{Na}$, $\text{O SO}_3 \text{Na}$, $\text{SO}_3 \text{H}$ etc...).

Après le rappel de ces quelques notions sur la constitution des surfactifs, voici la classification basée sur la nature de leur ionisation en milieu aqueux :

- a) les Anioniques
- b) les Cationiques
- c) les non ioniques.

Nous allons les passer très rapidement en revue, en insistant seulement sur ceux que nous avons particulièrement étudiés. La disparité des familles chimiques qui les composent nous a imposé cette sélection.

a) Les ANIONIQUES-

Ils comprennent les sels d'acides carboxyliques d'une part et les sels alcalins de dérivés sulfatés ou sulfonés d'autre part.

- Sels d'acides carboxyliques :

1 - Savons alcalins d'acides gras - naturels de C_{12} à C_{18} : Laurates, Palmitates, Linoléates, Oléates, Ricinoléates, Stéarates de Na, K, Ammonium.

Ce sont d'excellents émulsifiants H/E.

2 - Savons métalliques

3 - Savons organiques : ce sont les sels des mêmes acides et d'amines diverses comme la Triéthanolamine, la morpholine. Ce sont des émulsifiants H/E.

- Sels alcalins de dérivés sulfatés ou sulfonés :

1 - Sels d'alcools gras sulfatés ou Alkyl-sulfates : Ils sont obtenus en faisant réagir l'acide sulfurique sur des alcools gras d'origine végétale ou animale. (C_{12} : laurique, C_{16} : cétylique et C_{18} : stéarique-oléique). Les bases utilisées sont la Soude, l'Ammoniaque, la Triéthanol-amine.

Ils sont très solubles dans l'eau et sont d'excellents émulsifiants H/E. Citons le Laurylsulfate de Sodium et le Cétylsulfate de sodium parmi les plus utilisés.

2 - Sels d'esters acides et huiles sulfatées comme les Sulforicinates normaux et hydrogénés.

b) Les CATIONIQUES-

Ce sont des sels d'ammonium quaternaires dont le cation actif est formé par un radical gras à charge positive.

Parmi eux, citons les Halogénures d'ammonium quaternaire (chlorures et bromures de Cétyldiméthylbenzyl-ammonium et cétyltriméthyl-ammonium) qui sont surtout employés comme antimicrobiens plutôt que comme émulsifiants.

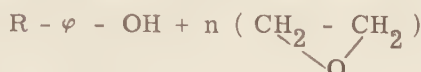
c) Les NON-IONIQUES-

Ils sont de plus en plus employés en cosmétologie et les plus courants sont les molécules du type éther $R-O-R'$ ou du type ester $R-COOR'$.

Ils sont dignes d'intérêt car ils sont compatibles avec tous les autres types d'agents de surface, sont moins irritants et agissent dans une zone de pH plus étendue car stables tant en présence d'acides que d'alcalis.

Les groupements hydrophiles et hydrophobes sont en proportions différentes d'où leur solubilité tantôt dans l'huile tantôt dans l'eau.

1 - Les éthers R - OR' : Ils résultent de la condensation d'Alkylphénols avec l'oxyde d'éthylène



La partie lipophile est R - φ (R doit avoir de 5 à 18 atomes de carbone et φ est un benzène, un naphthalène ou un diphényl).

La partie hydrophile est une chaîne d'oxyde d'éthylène.

2 - Les esters R - COO R' : R représente un radical non polaire : chaîne d'acides gras à 12 ou 18 atomes de carbone : acides laurique, oléique, ricinoléique etc...

R' est une terminaison non polaire qui peut être un alcool gras (Glycérol, Polyglycérol, Ethylène-glycol, di, triéthylène-glycol, Polyéthylèneglycol, Propylèneglycol, Sorbitol, Sorbitane : anhydride du Sorbitol etc...).

En fait nous trouvons ici deux grands groupes très importants :

- les Esters des Glycols
 - les Esters du Sorbitane.
 - Les esters des glycols : ils sont surtout obtenus à partir de l'acide stéarique, de l'acide oléique et de l'acide palmitique.
- Le Codex a inscrit à sa dernière édition :
- un stéarate d'éthylène-glycol (page 449) (Monthyle¹ - Cutina A.G.S.²).
 - un stéarate de diéthylène-glycol (page 373) (Hydrine¹).
 - un stéarate de propylèneglycol (page 906) (Monostéol¹).
 - un stéarate de polyoxyéthylèneglycol 300 (page 833) (Polys-tate C¹).

TABLEAU III

- PRINCIPALES CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES DES ESTERS DE GLYCOLS ET DE P. E. G.

| NOM CHIMIQUE | APPARENCE
PHYSIQUE | DISPERSIBLES
DANS L'EAU | SOLUBILITES
HYDRO -
CARBURES | HUILE
ALCOOL | POINT DE
FUSION | INDICE DE
SAPONIFICATION |
|-----------------------------------|-----------------------|----------------------------|------------------------------------|-----------------|--------------------|-----------------------------|
| 1) ESTERS des GLYCOLS | | | | | | |
| A - ETHYLENE-GLYCOL
STEARATE | Sol. Blanc | leg. à chaud | S | S | 56° C | 176/180 |
| B - PROPYLENE-GLYCOL
LAURATE | Liq. ambré | leg. à chaud | S | S | 12/15° C | 212/218 |
| OLEATE | Liq. ambré | leg. à chaud | S | S | 7° C | 169/173 |
| STEARATE | Sol. blanc | leg. à chaud | S | S | 28/36° C | 158/162 |
| OLEOSTEARATE | Pât. ivoire | leg. à chaud | S | S | | 166/170 |
| C - DIETHYLENE-GLYCOL
STEARATE | Sol. ivoire | leg. à chaud | S | S | 46° C | 159/163 |
| D - TRIETHYLENE-GLYCOL
OLEATE | Liq. ambré | leg. à chaud | S | S | 14/15° C | 136/140 |
| STEARATE | Sol. ivoire | leg. à chaud | S | S | 40° C | 121/125 |
| 2) ESTERS DE P. E. G. | | | | | | |
| A - LAURATES | | | | | | |
| MONOLAURATE 400 | Liq. ambré | leg. | PS | S | 10° C | 95/99 |
| DILAURATE 400 | Pât. ivoire | tot. | S | S | 13° C | 178/188 |
| MONOLAURATE 600 | Liq. ambré | tot. | S | S | 20/25° C | 74/78 |
| B - OLEATES | | | | | | |
| MONOOLEATE 300 | Liq. ambré | sol. colloïd | S | PS | | 90/95 |
| DIOLEATE 300 | Liq. ambré | leg. | S | S | | 145/150 |
| C - MYRISTATES | | | | | | |
| MONOMYRISTATE 400 | Liq. ambré | leg. | PS | PS | | 94/96 |
| D - STEARATES | | | | | | |
| MONOSTEARATE 300 | Sol. ambré | dis. à chaud | PS | PS Huile | 30° C | 90/94 |
| DISTEARATE 300 | Sol. ambré | leg. à chaud | S | S | 38° C | 135/140 |
| MONOSTEARATE 1540 | Sol. ambré | sol. colloïd | PS | PS Huile | 43° C | 30/35 |

D'après GATTEFOSSE S. F. P. A.
 Abréviations : P. S. Peu soluble
 S. soluble
 Leg. légèrement
 Sol. colloïd. solution colloïdale

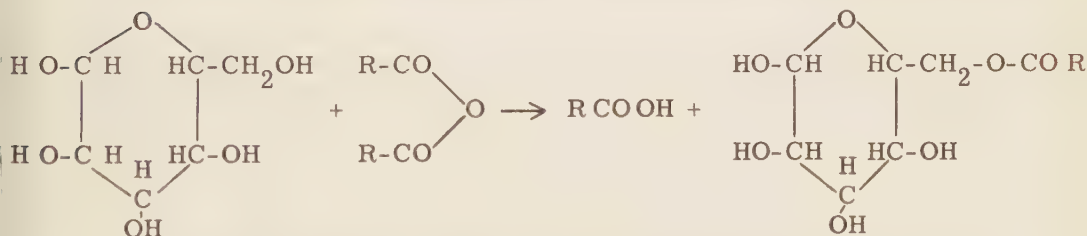
Le Codex les définit comme étant des mono et diesters de glycols des acides palmitique et stéarique et préconise l'identification des composants glycoliques après saponification alcaline par l'utilisation de la chromatographie sur papier.

D'autres esters ont été aussi commercialisés et dans le tableau suivant sont résumées les principales caractéristiques physico-chimiques de ces produits (Tableau III).

- Les esters du Sorbitane : Ce sont des dérivés du Sorbitane ou Hexitane qui est un polyol renfermant quatre fonctions OH, ce qui leur confère un caractère hydrophile marqué. Noms commerciaux : Spans, Tweens, Arlacel, Crill.

Les Spans ⁽¹⁾

Ils sont obtenus en faisant agir l'anhydride de l'acide sur le Sorbitane.



On obtient ainsi des mélanges d'esters hydrophobes en fixant des restes d'acides gras sur l'Hexitane.

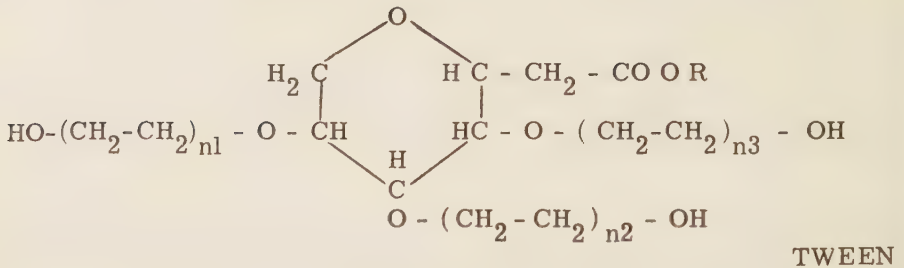
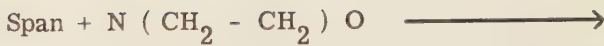
Chaque Span porte un numéro caractéristique dépendant de l'acide gras qui a servi à l'estérification.

Span 20 : monoester de l'acide laurique.

Span 40 : monoester de l'acide palmitique, etc...

Les Tweens ⁽¹⁾

Si on greffe sur les fonctions OH libres de l'Hexitane d'un Span des groupements oxyde d'éthylène, on obtient un Tween. On transforme ainsi les Spans hydrophobes, par augmentation du nombre de molécules d'oxyde d'éthylène, en produits essentiellement hydrophyles que l'on utilise seuls ou associés avec des Spans.



Ils sont caractérisés par une lettre N qui est la somme : $n_1 + n_2 + n_3$ et sont désignés par le même numéro que le span correspondant à l'acide gras estérifiant.

Dans le tableau ci-après sont résumées les principales caractéristiques de ces produits. (Tableau IV).

3 - Enfin les Alcools gras : C'est une classe de produits qui après avoir été pendant longtemps utilisés sous forme d'esters sont maintenant de plus en plus employés, seuls ou associés.

Les plus courants sont :

- l'alcool myristilique
- l'alcool cétylique (D.A.B. 6, Codex 1965 - N.F.).
- l'alcool stéarylique (U.S.P. XVI, Codex 1965)
- l'alcool cétylstéarylique (Lanette O⁺) (B.P. 1958, D.A.B. 6, Oe.P. 1960).

Ce sont des masses blanches, cireuses, qui ne peuvent être saponifiées comme les esters gras et enfin ne rancissent pas. Ils sont parfaitement tolérés par la peau et non toxiques.

Ces alcools non auto-émulsionnants sont employés dans les préparations galéniques en combinaison avec des émulsifiants. Ils agissent comme facteur de consistance dans les pommades et liniments et confèrent aux produits terminés une consistance plus molle tout en améliorant le pouvoir pénétrant dans la peau. En outre, ils conviennent parfaitement pour des préparations sous forme de sticks ainsi que dans les suppositoires pour augmenter le point de fusion et ce en présence de produits actifs qui abaissent ce point de fusion.

D'ailleurs, il vient d'être mis sur le marché depuis quelques mois toute une gamme d'excipients pour suppositoires formés essentiellement d'alcools gras, commercialisés sous le nom de masse pour suppositoires G⁺. Ils sont composés, en majeure partie,

CONSTANTES PHYSICO-CHIMIQUES DES TWEENS ET DES SPANS.

| NOM
COMMERCIAL | COMPOSITION | COULEUR | ETAT
à 25° C | Solubilité à 25° C et à une concentration de 10 %
dans : | | | |
|-------------------|--|---------------------|----------------------------|---|---------|---------|---------------------|
| | | | | EAU | ETHANOL | TOLUENE | HUILE
D'ARACHIDE |
| Span 20 | Monolaurate de Sorbitane | brun
rougeâtre | liquide | D | S | S | D |
| Span 40 | Monopalmitate de Sorbitane | ivoire | solide | G | SC | S | SCT |
| Span 60 | Monostéarate de Sorbitane | légèrement
crème | solide | I | SC | S | SCT |
| Span 80 | Monooléate de Sorbitane | ambre | liquide | I | S | S | S |
| | Esters de Sorbitane et d'acides
gras polyoxyéthylénés | | | | | | |
| Tween 20 | Monolaurate de Sorbitane POE | jaune | liquide | S | S | S | I |
| Tween 40 | Monopalmitate de Sorbitane
POE | jaune
pâle | liquide | S | S | S | I |
| Tween 60 | Monostéarate de Sorbitane
POE | jaune
pâle | liquide
semi-
solide | S | S | S | I |
| Tween 80 | Monooléate de Sorbitane POE | jaune | liquide | S | S | S | I |

Code : S : Soluble

SC : Soluble à chaud (environ 50° C)

SCT : Soluble à chaud avec léger trouble

D : Dispersible

G : Dispersible à chaud (environ 50° C)

I : Insoluble

de produits de condensation d'alcools gras dont la chaîne compte de 10 à 18 atomes de carbone et obtenus par la réaction de GUERBET. Cette réaction consiste à combiner deux alcools gras de longueur de chaîne identique ou différente de sorte que l'atome de carbone terminal du premier alcool gras se lie au deuxième atome de carbone du second avec libération d'une mole d'eau. Exemple: deux molécules en C_{16} ; nous obtenons une formule ainsi : : $C_{14}H_{29} - \underset{\substack{| \\ C_{16}H_{33}}}{CH} - CH_2OH$ qui s'appelle le 2 Tétradécyl-octadécanol⁺.

Grâce à la constitution ramifiée de ces combinaisons, les alcools Guerbet possèdent un point de fusion inférieur à celui des produits de départ et, par le jeu de réactions d'alcools gras de longueur de chaîne différente, il est possible de donner aux produits terminés n'importe quel point de fusion. Le fabricant met à la disposition du pharmacien une gamme de points de fusion importante puisqu'elle va de 31° à 41° en passant par tous les intermédiaires, en allant de 2° en 2°.

Enfin, pour permettre l'incorporation de solutions aqueuses ou alcooliques, la masse contient un émulsifiant non ionique à base de cire d'abeille. De plus, certains produits sont ajoutés en petite quantité pour favoriser le refroidissement et empêcher les cassures.

Une autre masse commercialisée par la même firme, composée essentiellement d'alcools gras durcis et de graisses a des propriétés très viscosines (Masse pour suppositoires I et II⁺).

Leur emploi est très aisé et d'après le fabricant on peut incorporer :

- de l'eau jusqu'à 40 %
- des huiles jusqu'à 40 %
- des extraits alcooliques, environ 30 à 40 %
- des huiles étherées, de 25 à 30 %.

Notre second grand groupe d'excipients modernes est formé des :

+ Henkel International G.M.B.H.

B - EXCIPIENTS GRAS, HYDROINSOLUBLES, PLUS OU MOINS HYDRODISPERSIBLES.

Ils sont formés essentiellement de Glycérides naturels ou de synthèse.

Ces excipients ont fait leur apparition ces dernières années. La Pharmacopée allemande (D.A.B.6) les a inscrit sous le nom de "Adeps Solidus Hartfett " dans sa sixième édition en 1959.

Le British Pharmaceutical Codex les a admis avec le beurre de cacao comme excipient officinal pour suppositoires.

Ils ont pris place dans la Pharmacopée Française (VIII^e édition de 1965) qui les définit comme " les produits obtenus par traitement d'huiles végétales naturelles ". Ils sont constitués en majeure partie par des mélanges de glycérides d'acides gras saturés (C₁₀ à C₁₈) pouvant contenir des quantités variables de mono et diglycérides.

Ils sont de plusieurs types, suivant leur consistance :

- durs : huile d'arachide hydrogénée, " Witepsol ", " Suppanes ", " Suppocires ", " Cutina ", " Imwitor ", etc.
- pâteux : " Onctex, ", " Ultrex ".
- liquides : " Labrafils ", " Labrafac ".

Nous allons passer en revue quelques uns de ces excipients, en insistant plus particulièrement sur ceux qui ont fait l'objet de notre recherche.

1 - Huile d'Arachide hydrogénée.

Elle n'est pratiquement plus utilisée pour la préparation des suppositoires, car suivant la fabrication son point de fusion à l'origine de 34° à 35°, peut varier jusqu'à 45°, ce qui la rend inutilisable

2 - Les masses Witepsol⁺.

Elles sont plus connues sous le nom de masses pour suppositoires Imhausen : ce sont aussi des huiles hydrogénées et essentiellement des huiles de coco. Elles sont composées de mélanges de triglycérides des chaînes saturées d'acides gras de C₁₂ à C₁₈ avec addition de mono et diglycérides des mêmes acides gras qui agissent comme émulateur. (75 - 81 - 171).

+ Chemische Werke Witten. (H. VILCOQ, Paris)

Toute une série de types de Witepsol a été commercialisée . ils se différencient les uns des autres par leurs propriétés physico-chimiques résumées dans le tableau ci-après. (Tableau V).

Ils sont solubles dans les solvants organiques, comme l'éther, le benzène, l'éther de pétrole en différentes proportions mais très peu ou pratiquement insolubles dans l'alcool absolu.

Du point de vue utilisation, les Witepsols des séries H et S sont employés principalement dans la fabrication industrielle : ils ont une zone de ramollissement assez courte et une fois coulés, ils se solidifient très rapidement.

Les types de Witepsols de la série W sont employés aussi bien dans la fabrication industrielle que dans la préparation magistrale à l'officine.

Les types de Witepsols E sont indiqués pour la fabrication des suppositoires destinés aux pays chauds ou des suppositoires contenant des substances à point de fusion faible.

III - Les Suppanes .

Ce sont des triglycérides de synthèse qui existent sous quatre formes :

- Suppane 36 et Suppane 36 émulsionnant
- Suppane 39 et Suppane 39 émulsionnant,

qui sont bien tolérés par la muqueuse rectale.

IV - Les Suppocires⁺ .

Ces excipients pour suppositoires se présentent sous forme de produits blancs, très stables à chaud, ne réagissant pas avec les médicaments incorporés.

Ils ont comme origine des huiles végétales hydrogénées où les chaînes grasses triglycéridiques insaturées sont ainsi transformées en chaînes saturées. L'interestérification de ces triglycérides par glycérolyse contrôlée entraîne la formation de diglycérides et de monoglycérides avec apparition de fonctions hydroxyles libres et de propriétés physiques particulières.

+ Gattefossé S. F. P. A.

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES EXCIPIENTS WITEPSOL

| | H 15 | H 12 | W 25 | W 35 | W 45 | S 55 | E 75 | E 85 |
|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| POINT DE FUSION (° C)
(point de fusion ascendant) | 33, 5-35, 5 | 32-33, 5 | 33, 5-35, 5 | 33, 5-35, 5 | 33, 5-35, 5 | 33, 5-35, 5 | 37 - 39 | 42-44 |
| POINT DE SOLIDIFICATION
(° C) (Méthode Shukoff) | 32, 5-34, 5 | 29 - 31 | 27 - 30 | 27 - 30 | 29 - 32 | 29 - 32 | 32 - 34 | 36 - 38 |
| INDICE D'ACIDE | inf. à 0, 2 | inf. à 0, 2 | inf. à 0, 3 | inf. à 0, 3 | inf. à 0, 3 | inf. à 1 | inf. à 1, 3 | inf. à 1, 3 |
| INDICE DE SAPONIFICATION | 230-240 | 240-245 | 225-240 | 225-235 | 225-235 | 220-230 | 220-230 | 220-230 |
| INDICE D'IODE (Kaufmann) | inf. à 7 | inf. à 7 | inf. à 7 | inf. à 7 | inf. à 7 | inf. à 7 | inf. à 7 | inf. à 7 |
| INDICE D'HYDROXYLE | inf. à 15 | inf. à 15 | ca. 30 | 40-50 | 40-50 | 50-65 | inf. à 15 | inf. à 15 |

SOLUBILITES *

| | 1, 5 | 1, 5 | 2 | 1, 5 | 1, 5 | 50 | 25 | 11 |
|------------------|----------|----------|----------|----------|----------|--------|-----------|------|
| ETHER | 1 | 1, 2 | 2 | 2 | 10 l. t. | 80 | 6 | 2, 2 |
| BENZENE | 15 l. t. | 15 l. t. | 40 l. t. | 80 l. t. | 450 | 1. 100 | 300 l. t. | 50 |
| ETHER DE PETROLE | 0, 7 | 0, 7 | 1 | 0, 8 | 0, 8 | 1, 5 | 2 | 1 |
| CHLOROFORME | | | | | | | | |
| ALCOOL ABSOLU | | | | | | | | |

très peu soluble

pratiquement
insoluble

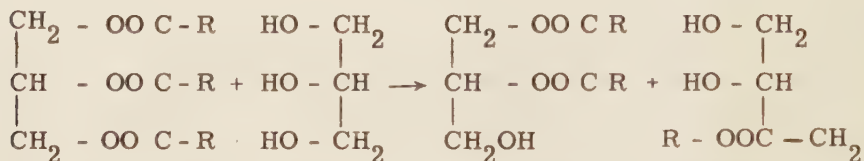
* Ce tableau indique la quantité de solvant nécessaire pour dissoudre
1 gramme de Witepsol. (l. t. : léger trouble)

Quelques mots sur cette interestérification :

L'étude de ces réactions faite par NAUDET (145) montre, en effet, que la liaison ester qui, dans les corps gras relie la molécule de glycérol aux restes d'acides gras est relativement instable dans certaines conditions. C'est ainsi que la migration des chaînes acylées d'une fonction hydroxyle à une autre devient aisée à haute température :



L'interestérification proprement dite conduit au remaniement de la structure glycéridique du corps gras avec transformation d'un triglycéride en un mélange déterminé de mono et diglycérides.



Triglycéride + Glycérine $\longrightarrow$ Diglycéride + Monoglycéride.

On sait que la proportion de mono et diglycérides augmente par rapport à celle des triglycérides et de ce fait, les fonctions hydrophiles se trouvent plus nombreuses, ce qui provoque la dispersibilité de l'excipient dans l'eau.

Il existe toute une gamme de Suppocires préparés en modifiant les proportions et la qualité des acides gras employés. Ils se différencient par leur point de fusion, principalement.

- Type A de 35 à 36°5
- Type B de 36 à 37°5
- Type C de 38 à 40°
- Type D de 42 à 45°.

Dans chaque type, il existe des variétés adaptées à un appareillage industriel AT, BT ou étudiées pour une diffusion rectale améliorée en augmentant l'hydrophilie par l'addition de polyoxyéthylène : AX, BX, CX, DX, H, L.

Les Suppocires d'usage très facile ne sont pas toxiques et sont bien tolérés par la muqueuse rectale.

Dans un tableau sont réunis les principaux caractères physico-chimiques de ces excipients (Tableau VI).

TABLEAU VI

PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES SUPPOCIRES (D'après Gattefossé S. F. P. A.)

| TYPE DE SUPPOCIRE | A | B | C | D | H | L |
|---------------------------------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------|----------|
| VARIETES | A - AX | B - BX | C - CX | D - DX | | |
| POINT DE FUSION | 35 - 36°, 5 | 36 - 37°, 5 | 38 - 40° | 42 - 45° | 35, 5 - 37°, 5 | 38 - 39° |
| INDICE D'ACIDE | < 1 | < 1 | < 1 | < 1 | < 1, 5 | < 1, 5 |
| INDICE DE SAPONIFICATION
Variété X | 230-240
215-230 | 230-240
215-230 | 225-235
210-220 | 220-240
205-225 | 200-220 | 200-220 |
| INDICE D'IODE | < 2 | < 2 | < 2 | < 3 | < 2 | < 2 |
| INDICE D'HYDROXYLE | 20-30 | 20-30 | 20-30 | 10 | 40-65 | 40-65 |

SOLUBILITES *

| | | | | | | |
|------------------|-------|-------|-------|--|--|--|
| CHLOROFORME | 0, 8 | 0, 8 | 0, 8 | | | |
| ETHER SULFURIQUE | 1, 5 | 2 | 3 | | | |
| BENZENE | 1, 5 | 1, 5 | 1, 5 | | | |
| ETHER DE PETROLE | 10 | 10 | 15 | | | |
| ALCOOL | P. S. | P. S. | P. S. | | | |

* Ce tableau indique la quantité de solvant nécessaire pour dissoudre 1 gramme de Suppocire.

V - Depuis quelques mois, est commercialisée en France, une série de masses pour suppositoires appelées Massa Estarinum ⁽¹⁾ et dont il existe plusieurs types : A, AB, AS, B, etc. Ils répondent, d'après le fabricant, aux exigences formulées pour les " glycérides semi-synthétiques " du Codex 1965.

Toujours dans cette gamme de glycérides de synthèse ont été commercialisés des mélanges de mono et diglycérides, sous le nom de Cutina ⁺.

VI - Les Cutina ⁽¹⁾.

Ils se présentent sous forme de masse cireuse ou non blanche à légèrement jaunâtre, à faible odeur caractéristique.

Le Cutina MD formé d'un mélange de mono et diglycérides d'acides gras saturés à poids moléculaire élevé (notamment d'acide palmitique et stéarique) est utilisé comme matière de base non auto-émulsionnante et comme facteur de consistance dans des préparations pharmaceutiques et cosmétiques.

Le Cutina KD 16 est toujours un mélange de glycérides (mono et di) des acides palmitique et stéarique mais il est auto-émulsionnant et sert de base aux émulsions de type H/E.

Le Cutina OR : toujours la même composition de base mais il est additionné d'un polysaccharide comme stabilisateur. Il est aussi auto-émulsionnant.

Le Cutina L E : il est formé par la combinaison de 90 parties d'un mélange de mono et diglycérides des mêmes acides gras saturés et de 10 parties d'un mélange de sels de Sodium d'esters d'acide sulfurique d'alcool gras primaire saturé, et principalement de sulfate de Sodium, d'alcool cétylique et d'alcool stéarilique. Il est auto-émulsionnant et sert de base pour des pommades, des crèmes cosmétiques et des émulsions H/E.

Enfin, il nous reste à mentionner les esters stéariques du Glycérol signalés dans la dernière Pharmacopée Française : ce sont naturellement des glycérides solides.

VII - Le Stéarate de Glycérol Codex est un mélange de mono, de di et de triglycérides des acides palmitique et stéarique. Commercialisé, il prend le nom de Geleol ⁽²⁾ ou de Imwitor ⁽³⁾ 950 ou 960, Précirol ⁽²⁾ et peut être rendu auto-émulsionnable par l'addition d'un émulsionnant (Gelot 64 ²).

(1) Henkel International G.M.B.H.

(2) Gattefossé S.F.P.A.

(3) Chemische Werke Witten

Ces produits se présentent sous la forme de masses cireuses ou de copeaux de couleur blanche, non miscibles à l'eau, solubles dans l'alcool à chaud (60°) et dans les solvants organiques.

Ils servent à la fois comme adjuvant liant, lubrifiant, pour la préparation des comprimés (Précirol¹) comme matière de base pour des émulsions cosmétiques (H/E) de consistance fluide jusqu'à solide pâteux et enfin dans la préparation des suppositoires lorsqu'il faut augmenter le pouvoir d'absorption de solutions aqueuses ou d'extraits aqueux (0,5 à 2 %).

VIII - Les Glycérides semi-synthétiques pâteux :

Il faut citer :

"Onctex"⁽²⁾ qui est une masse pâteuse composée de glycérides animaux et végétaux transestérifiés. Il est anhydre et hydrodispersible.

"Ultrax"⁽²⁾ : formé de graisses animales hydrogénées rendues auto-émulsionnables par addition d'un émulsionnant non ionique.

IX - Enfin, la dernière classe des glycérides : les glycérides liquides.

Le Codex a inscrit dans sa dernière édition des glycérides oléiques polyoxyéthylénés qui sont des produits obtenus par alcoolyse d'huiles végétales naturelles en présence de Polyoxyéthylène-glycol de poids moléculaire compris entre 200 et 400.

Ils sont constitués par des mélanges définis d'esters partiels mixtes de glycérol et de poly-éthylène-glycols..

Le Codex les décrit comme étant des liquides huileux de couleur ambrée, à odeur et saveur oléique.

Ils ont été commercialisés sous le nom de Labrafils⁽¹⁾ et sont désignés par un chiffre encadré de deux lettres. Ainsi les Labrafils M 1944 C et M 1980 C sont des liquides huileux fluides répondant à la définition du Codex, les autres tels que le M 2130 C ou le M 2125 C sont soit des solides cireux, soit des pâtes liquides, cette différence provenant de la nature du corps gras traité.

Ces produits sont solubles dans le chloroforme, l'éther de pétrole, assez solubles dans l'alcool éthylique absolu, sous certaines conditions, dispersibles totalement dans l'eau en donnant une émulsion H/E.

Leur utilisation :

a) en tant que corps gras fluides, pâteux ou cireux, les Labrafils sont des solvants et des excipients exclusifs et partiels.

b) en tant que corps gras hydrophiles, ils sont d'une part des mouillants doux, non ioniques, émulsionnants faibles et, d'autre part

(1) Gattefossé S.F.P.A.

(2) Monot.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES BIBLIOGRAPHIQUES

Dans cette partie, seront passées en revue les diverses techniques relevées dans la littérature pour l'analyse des excipients que nous venons de voir.

Nous allons nous attacher, surtout, aux méthodes chromatographiques générales qui nous ont servi à orienter les recherches. Les autres techniques analytiques quantitatives adaptées à des points particuliers seront vues au fur et à mesure de l'exposé.

Au sein même de ces techniques chromatographiques n'ont été sélectionnées que les techniques de chromatographie en couches minces et de chromatographie en phase gazeuse : les techniques de chromatographie sur colonnes et sur papier ont été volontairement supprimées, non pas qu'elles soient fausses ou inexactes mais parce qu'elles ne conviennent pas ou du moins s'adaptent mal à des techniques dites rapides.

De plus cette étude chromatographique sera surtout relative aux matières grasses sur lesquelles la littérature est très riche, les nouvelles bases n'ayant fait l'objet que de quelques travaux qui seront mentionnés en fin de partie dans un chapitre spécial.

C H A P I T R E I

REVUE DES TECHNIQUES DE CHROMATOGRAPHIE EN COUCHES MINCES APPLIQUEES AUX DIFFERENTES CLASSES DE MATIERES GRASSES.

A - RAPPEL THEORIQUE.

La chromatographie en couches minces a été présentée à un cercle de spécialistes en 1958 par E. STAHL (179) sous la forme qu'on lui connaît actuellement. Depuis, son usage s'est répandu dans le monde entier. On a déjà publié sur elle cinq monographies (20 - 68 - 159 - 178 - 192) et plus de deux mille mémoires.

Cette technique qui permet la séparation par adsorption et partage de très petites quantités de substances, complète les procédés chromatographiques ordinaires (chromatographies sur colonnes, sur papier, de fixation sur échangeurs d'ions ou de précipitation).

On opère sur des plaques de verre recouvertes d'une couche mince adsorbante, suffisamment solide pour permettre la chromatographie ascendante. La séparation des mélanges est obtenue sur des distances relativement petites, de 10 à 14 cm.

Les principaux avantages de la chromatographie en couches minces sont en bref les suivants :

1) Le temps requis pour l'analyse est très court (de 20 à 40 minutes selon la phase et l'adsorbant). Les adsorbants utilisés sont,

par exemple, le gel de silice, l'oxyde d'aluminium, le kieselgühr, le phosphate de calcium, la cellulose, le polyamide, etc... (voir précisions dans 152).

2) Possibilité d'employer des adsorbants de préférence inorganiques ce qui permet d'utiliser des réactifs corrosifs.

3) L'effet séparateur est beaucoup plus net qu'avec les autres types de chromatographie.

4) Possibilité d'analyser avec précision des quantités dix fois plus petites que pour la chromatographie sur papier.

5) Enfin, possibilité de tirer parti des observations de l'analyse pour adapter sur plaques de grand format la même analyse et récupérer, en vue d'une étude poussée, les différents spots obtenus.

Les différentes techniques de préparation des plaques et de développement ont fait l'objet de nombreux travaux (152 en particulier) et nous n'y reviendrons pas.

Un seul inconvénient à signaler : la quasi impossibilité d'établir définitivement un R_f (195) en raison des nombreux facteurs qui peuvent entrer en jeu lors des migrations, facteurs susceptibles de modifier les R_f . C'est pourquoi, la plupart des auteurs donnent un R_f approximatif et font migrer en même temps une substance témoin pour authentifier le résultat. C'est ainsi d'ailleurs que nous avons procédé.

Ainsi, par sa rapidité, ses avantages, la chromatographie en couches minces a pu être introduite en pharmacie dans presque tous les domaines, en particulier celui des matières grasses.

B - APPLICATION à l'ETUDE des MATIERES GRASSES.

C'est assez tardivement que la chromatographie en couches minces fut adaptée à l'étude des lipides. La méthode est applicable à des doses allant des microgrammes aux milligrammes. De plus, les possibilités de récupérer les matières grasses à partir du chromatogramme sont meilleures qu'avec les autres types de chromatographie (sur papier en particulier), à condition toutefois de ne pas pulvériser sur la plaque des réactifs trop agressifs.

Il est impossible d'exposer en détail toutes les techniques de chromatographie en couches minces qui ont été mises au point pour l'analyse des lipides : elles sont toutes voisines, ne différant que sur un point précis et s'adaptant aux besoins des auteurs. Aussi, dans les tableaux suivants, avons nous réuni les principales techniques avec leurs caractéristiques essentielles, en les groupant par classes de produits étudiés, ce qui permet d'avoir, sur quelques pages, le résumé des diverses possibilités offertes au chercheur par la chromatographie en couches minces (Tableaux VII, VIII, IX).

TABLEAU VII - LIPIDES DIVERS

| REF. | ADSORBANTS | SOLVANTS | REVELATEURS |
|------|--|---|---|
| 127 | Acide silicique | Ether de Pet. - Et. O. Et. (92:8) | a) Autoradiographie
b) α - Cyclodextrine-Iode
c) Iode |
| 124 | Silicagel G | a) Ether de Pet - Benzène (95:5)
b) Benzène saturé de NH_4OH N
c) CHCl_3 (saturé de NH_4OH N) - MeOH (95:3)
d) Acétone - NH_4OH 14N (90:10) | a) Iode
b) Dichlorofluoresceine
c) $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ dans SO_4H_2 |
| 124 | Silicagel G + 10 % $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ | CHCl_3 - (MeOH - SO_4H_2 0, 1 N) (95:5) (97:2) (80:20) | |
| 125 | Silicagel G | a) Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH
(90:10:1) (70:30:2) (70:30:1)
b) Hexane - Et. O. Et. (95:5) | a) Iode
b) Dichlorofluoresceine |
| 126 | Silicagel G | Hexane - Et. O. Et. - AcOH (90:10:1) | Dichlorofluoresceine |
| 198 | Acide silicique + Plâtre de Paris | a) CHCl_3 - MeOH - Eau (80:25:3)
b) Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH (90:10:1) (60:40:1) | Dichlorofluoresceine |
| 17 | Silicagel G | a) Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH (90:10:1)
b) CHCl_3 - MeOH - Eau (65:25:4) | a) Anhydride acétique + SO_4H_2 (4:1)
b) R. de Dragendorff
c) Molybdate de NH_4 |
| 28 | Silicagel G | Heptane - Et. O. Et. - AcOH (90:10:2) | $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$ dans SO_4H_2 |
| 200 | Silicagel G | Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH (85:15:1) | Photocopie U. V. |
| 103 | Silicagel G | a) Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH (70:30:1)
b) Et. O. Et. - Ether de Pet. - AcOH (70:30:1) | Dichlorofluoresceine |
| 51 | Silicagel G | a) CHCl_3 - MeOH - Eau (65:25:4)
b) Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH (80:20:1) | a) Iode
b) Acide phosphomolybdique |
| 158 | | Revue Générale | |
| 164 | Silicagel + Si. de Mg dans
NaCl 0, 1 N | a) CHCl_3
b) CHCl_3 - MeOH (98:2)
c) CHCl_3 - MeOH - Eau (65:25:4) (65:30:5) etc | $\text{Cr}_2\text{O}_7\text{K}_2$ |
| 201 | Silicagel G | CHCl_3 - MeOH - Eau (65:25:4) | a) Rhodamine B
b) R. de Dragendorff |
| 93 | Tous | Tous | Rhodamine B
Dichlorofluoresceine
Et. O. Et.
Et. OH
Eau |

TABLEAU VIII - GLYCERIDES

| REF. | ADSORBANTS | SOLVANTS | REVELATEURS |
|------|---|--|--|
| 13 | Silicagel + NO_3Ag | CHCl_3 -AcOH (99,5:0,5) | Dibromofluoresceine |
| 46 | Silicagel G | CHCl_3 -Benzène (70:30) | SO_4H_2 concentré |
| 96 | Silicagel G + Undecane | a) CHCl_3 -MeOH-Eau (5:15:1)
b) Acétone- CH_3CN (7:3) | Rhodamine B |
| 156 | Silicagel G | " Skelly Solve F "-Et.O.Et. (10:90)(70:30)(90:10) | SO_4H_2 à 50 % |
| 92 | Silicagel G | a) 1, 2 Dichloroéthane
b) CHCl_3
c) 1, 2 Dichloroéthane-MeOH (98:2)
d) Ether de Pet.-Et.O.Et. (70:30)
e) CHCl_3 -AcOH (96:4) | a) $\text{I O}_4 \text{H}$
b) Réactif de Schiff
c) Bleu de Bromothymol |
| 74 | Hydroxyl-apatite | Méthyl-isobutyl-cétone à 10° | Acide phosphomolybdique |
| 102 | Kieselgüth G imprégné de pétrole | Acétone- CH_3CN (8:2) (7:4) | Acide phosphomolybdique
Iode
α Cyclodextrine-Iode |
| 101 | Piâtre de Paris imprégné de Paraffine | a) Acétone - CH_3CN (8:2)
b) Acide propanoïque- CH_3CN (6:4) + 0,5% Br_2 par volume | Noir Soudan B |
| 100 | Kieselgüth imprégné de tétradécane | a) Acétone- CH_3CN (8:2) saturé à 80 % par tétradécane
b) Acide propanoïque - CH_3CN (6:4) saturé à 80 % par tétradécane + 0,5 % de Br_2 par volume | a) Iode
b) Acide phosphomolybdique |
| 99 | Kieselgüth G imprégné de Paraffine ou huile siliconée | c) Acétone - CH_3CN (8:2)
d) MeOH- CH_3CN (5:4)
e) MeOH- CH_3CN - $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CN}$ (5:4:1,5)
f) Solution (e) saturée d'huile siliconée | c) Rhodamine B
d) Iode
e) Acide phosphomolybdique |
| 176 | Silicagel G | Ether de Pet.-Et.O.Et. - AcOH (90:10:1) | a) Iode
b) Dichlorofluoresceine |

TABLEAU VIII (Suite) GLYCERIDES

| REF. | ADSORBANTS | SOLVANTS | REVELEURS |
|------|---|---|---|
| 12 | Silicagel G + NO ₃ Ag | CHCl ₃ -CCl ₄ -AcOH (40:60:0, 5) + Et. OH | Dibromofluoresceine |
| 8 | Kieselgthr G imprégné de paraffine | AcOH | a) Iode et benzidine
b) Rhodamine B et KOH |
| 214 | Silicagel G | Ether de Pet. -Méthyl-éthyl-cétone-AcOH (84:15:1) | a) SO ₄ H ₂ à 50 %
b) Tetroxyde d'Osmium
c) Rhodamine 6 G |
| 196 | Silicagel imprégné de NO ₃ Ag | Hexane-Et. O. Et. (75:25) (90:10) | Dichlorofluoresceine |
| 19 | Acide silicique + NO ₃ Ag | CHCl ₃ -Me OH (100:0, 8)(100:2, 3) | Dichlorofluoresceine |
| 5 | Silicagel G + NO ₃ Ag | Benzène | Dichlorofluoresceine |
| 59 | a) Gypse
b) Gypse + NO ₃ Ag | a) Dichloroéthane
b) Ether de Pet. -Et.O. Et. (3:7)(1:1)(7:3)(1:0) | a) KMnO ₄
b) Acide phosphomolybdique
c) Iode |
| 155 | Silicagel G | cf 39 | SO ₄ H ₂ concentré |
| 49 | Silicagel G | Ether de Pet. -Et. O. Et. -AcOH (80:20:1) | Dichlorofluoresceine |
| 157 | Silicagel G | cf 39 | K ₂ Cr ₂ O ₇ dans SO ₄ H ₂
à 80 % à 180°. |
| 137 | Silicagel ou Gypse + Paraffine | | Iode |
| 65 | Silicagel + NO ₃ Ag | Benzène-Et. O. Et. (8:2) | Dichlorofluoresceine |
| 169 | Silicagel G | Ether de Pet. Et. O. Et. -AcOH (82:18:1) | SO ₄ H ₂ + Eau (1:1) |

TABLEAU IX - ACIDES GRAS+ ET LEURS ESTERS METHYLIQUES ++

| REF. | ADSORBANTS | SOLVANTS | REVELATEURS |
|-------|--|---|---|
| 96+ | Silicagel imprégné de Undecane | a) AcOH 96 %
b) AcOH-CH ₃ CN (1:1) | Acide Phosphomolybdique |
| 125+ | Silicagel G | Ether de Pet. - Et. O. Et. - AcOH (70:30:1) (70:30:2) | Dichlorofluoresceine |
| 9++ | Acide silicique + Amidon + P | a) " Skelly Solve F. " Et. O. Et. (90:10) (70:30) (50:50)
b) Benzène - Et. O. Et. (75-25) (50:50) | a) Dichlorofluoresceine
b) U.V.
c) Fluoresceine - Br ₂ |
| 141++ | Silicagel imprégné de AgNO ₃ | Et. O. Et. - Hexane (10:90) (40:60) | Dichlorofluoresceine |
| 165++ | Silicagel G | Hexane- Et. O. Et. - AcOH (85:15:1) | Dichlorofluoresceine |
| 197++ | Silicagel G | Hexane- Et. O. Et. mélanges jusqu'à 30 % Et. O. Et. | a) Iode
b) Dichlorofluoresceine
c) SO ₄ H ₂ à 50 % |
| 142++ | Silicagel G | Ether de Pet. - Et. O. Et. (80:20) + 1 % AcOH | SO ₄ H ₂ à 50 % |
| 150++ | Silicagel + Huile siliconée + NO ₃ Ag | MeOH à 95 % saturé d'huile siliconée et de NO ₃ Ag | Acide Phosphomolybdique à 20 %
et Et. OH. |
| 205+ | Silicagel G | Heptane - Dioxane (60:40) | Rhodamine B |
| 98+ | Kieselgühr G + Tetradecane | AcOH - Eau (90:10) | Dibromofluoresceine |
| 161+ | Silicagel G | CCl ₄ - AcOH (99:1) | |

C H A P I T R E I I

REVUE DES TECHNIQUES DE CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE APPLIQUEES A L'ETUDE DES MATIERES GRASSES.

Le terme de Chromatographie en phase gazeuse (ou phase vapeur) groupe deux techniques : la chromatographie gaz-solide (C.G.S.) et la chromatographie gaz-liquide (C.G.L. ou G.L.C. pour les Anglo-Saxons). La première utilise l'affinité de certains composés à l'état de vapeur pour certains adsorbants tels que le charbon actif, l'alumine, le gel de silice. Elle n'est citée que pour mémoire, ses applications sont restreintes.

La seconde a fait son apparition pratique en 1952 avec les travaux de MARTIN et JAMES (131) alors qu'elle avait été prévue dès 1941 par MARTIN et SYNGE (130).

A - RAPPEL THEORIQUE .

I - Principe de la méthode.

Schématiquement, l'appareil se compose d'une colonne remplie de grains de support inerte, enduits d'un produit organique liquide à la température de fonctionnement, mais d'une tension de vapeur très faible.

Le liquide constitue la phase stationnaire. L'ensemble, maintenu à une température donnée est parcouru par un gaz dit gaz

vecteur (ou permanent) à débit constant qui sert d'éluant : c'est la phase mobile (figure 1). Si l'on injecte un mélange de deux constituants P1 et P2 en tête de colonne, les différences de répartition entre phase stationnaire et phase mobile vont assurer des vitesses de déplacement différentes, donc des temps d'émergence différents pour P1 et P2. Un dispositif détecteur permet de noter l'instant où un constituant sort à l'autre extrémité de la colonne.

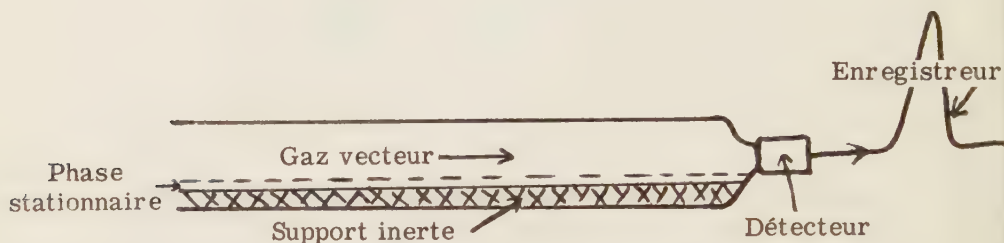


Fig. 1 - Principe de la Chromatographie en phase gazeuse.

Les principales constantes utilisées par le chercheur sont :

- 1) T_R = temps de rétention : c'est le temps qui sépare l'instant de l'introduction d'un composé en tête de colonne de l'instant de sa sortie à l'autre extrémité, exprimé en secondes ou minutes.

- 2) V_R = volume de rétention : c'est le volume de gaz vecteur qui s'échappe de l'appareil pendant le temps T_R mesuré dans les conditions qui règnent à la sortie de la colonne.

$$V_R = T_R \times D_S$$

- 3) D_S = débit gazeux mesuré à la sortie de colonne et à la température de fonctionnement de la colonne. Il s'exprime en ml/minute ou en litre/heure.

Pour des conditions déterminées, V_R est une constante pour chaque substance comparable au r_f de la chromatographie sur papier. Les autres constantes bien qu'assez importantes n'ont pas d'application directe dans l'identification des produits étudiés.

II - Chromatogramme :

Chaque appareil comporte un système pour détecter les produits à leur sortie (cellules de conductivité thermique, détecteurs à ionisation de flammes etc...), certains même des dispositifs de spectrophotométrie ou de spectrographie de masse permettant leur identification et leur dosage.

Dans tous les cas, les indications du détecteur sont transmises à un appareil enregistreur et la sortie du produit se traite finalement par le déplacement d'un stylet sur une bande de papier qui se déroule à une vitesse constante et permet ainsi l'obtention d'une trace formée de pics successifs dont la surface est proportionnelle à la concentration du produit dans le mélange considéré.

Pour mesurer cette surface, on peut faire appel à la Triangulation normale (84) ou modifiée (32) (hauteur x base mesurée à mi-hauteur), se servir d'un planimètre ou encore découper le pic et le peser, ou enfin, adapter au chromatographe un intégrateur de surface électronique. Toutefois, au laboratoire, c'est la triangulation normale qui semble donner les résultats les plus justes (90).

B - APPLICATION A L'ETUDE DES MATIERES GRASSES.

Jusqu'à ces dernières années, seuls les acides gras avaient pu être étudiés en chromatographie en phase gazeuse. Or, récemment avec la mise au point de certaines colonnes, des auteurs ont pu étudier les glycérides en chromatographie en phase gazeuse.

I - Chromatographie en phase gazeuse des Acides Gras.

II - Chromatographie en phase gazeuse des Glycérides.

I - CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE DES ACIDES GRAS.

Dans cette partie, contrairement à la Chromatographie en couches minces, les techniques varient peu, seuls les produits étudiés sont différents. (1-10-38-50-57-79-111-187-etc...). C'est pourquoi il n'était pas possible de faire des tableaux synoptiques des travaux en chromatographie en phase gazeuse. Nous envisagerons successivement la séparation puis l'identification des différents acides.

a) Séparation :

On peut opérer soit sur les esters méthyliques, soit sur les acides libres.

1 - Sur les Esters méthyliques.

Dans leur quasi totalité, les travaux publiés ont été effectués sur les esters méthyliques : la plupart des acides d'intérêt biologique appartiennent aux termes supérieurs et l'utilisation des esters a permis d'obtenir de meilleures séparations et de travailler à des températures plus basses qu'en opérant sur les acides libres. Cependant, comme nous le verrons plus loin, ces conceptions se modifient peu à peu avec le progrès des techniques.

- Préparation des Esters méthyliques.

De nombreux procédés de méthylation ont été décrits et adaptés à l'estérification de petits échantillons. On a beaucoup discuté (199) sur les avantages respectifs des méthodes classiques (7) (catalyse acide ou alcaline 45-88-185) ou des procédés spéciaux de méthylation faisant intervenir l'acide chlorhydrique (24-121), l'acide para-toluène sulfonique (149), le diazométhane (88-91-121-143-163-185) ou les mélanges Trifluorure de Bore-méthanol (135-136).

Lorsque l'échantillon contient des acides insaturés, l'estérification doit être effectuée en présence de trace d'anti-oxygène (hydroquinone).

- Phases stationnaires utilisées.

Les plus couramment utilisées sont la graisse Apiezon M ou L, des polyesters et également des huiles ou graisses de Silicone.

Les polyesters ont l'avantage sur l'Apiezon d'avoir une meilleure sélectivité à l'égard du degré d'insaturation. Ce sont presque toujours des polyesters de Diéthylèneglycol ou d'éthylèneglycol et d'un acide dicarboxylique qui peut aller du succinique au sébacique.

La longueur du diacide joue d'ailleurs un rôle important (3-119), la meilleure séparation du couple stéarique-oléique étant obtenue avec les polyesters d'acide succinique (149) (Succinate de diéthylèneglycol).

D'autres substances ont été aussi essayées ; le butane-diol 1 - 4 (45), l'adipate de diéthylène glycol (45), de propylène-glycol (149), l'adipate de polyéthylène-glycol (88), des copolyesters d'acide adipique ou succinique et d'éthylène-glycol (24 - 115 - 116).

Ces polyesters qui peuvent se préparer au laboratoire (44-45 - 88) ou s'acheter ont fait l'objet de nombreuses études comparatives (45 - 148) dont les conclusions sont très discutées (104 - 116).

Les températures maximales de ces phases sont très variables : de 200° pour l'adipate de polypropylèneglycol (Réoplex 400) à 225° pour le succinate de diéthylène-glycol, ou 250° à 300° pour les Apiezon.

- Résultats obtenus :

D'une façon générale, les constituants d'un extrait lipidique d'origine quelconque représentés par des acides gras à chaînes courtes (C1 à C6) et à chaînes longues (C7 à C22) ne peuvent être séparés sur une même colonne dans les mêmes conditions opératoires, car les temps d'élutions extrêmes seront beaucoup trop différents (149).

Pour analyser pareil mélange, il faut soit le scinder en deux groupes :

- par distillation azéotropique des esters méthyliques (149) ou par chromatographie du mélange total à température suffisamment élevée pour séparer correctement les termes supérieurs et au cours de laquelle les termes inférieurs qui émergent en tête presque tous ensemble seront recueillis et soumis à une seconde chromatographie à une température plus basse.
- Par chromatographie à deux températures différentes ou à température programmée (beaucoup plus élégante).

On a pu ainsi séparer :

- les acides saturés linéaires sur Apiezon à 197°, sur Silicone ou Polyester à 180° (88),
- les composés linéaires et ramifiés sur les mêmes colonnes (55-69-70-82-87-110),
- les acides insaturés sur polyesters (44-118-119-148) ou sur Apiezon (88-118-148) mais avec beaucoup plus de difficultés surtout dans les cas d'isomères de position (14-47-55-86-88-184). Sur colonnes capillaires les résultats sont plus intéressants (117 - 118).
- les acides dicarboxyliques (3-66-85-91-114), des acides hydroxycétoniques, acétyléniques, époxy, cyclopropéniques (113-138-139-140-etc...).

2 - Sur les Acides libres.

La séparation en chromatographie en phase gazeuse des acides gras directs a depuis longtemps intéressé les chercheurs (14-23-78-83-162-186) en raison de la simplicité de la méthode, de la rapidité du résultat qui ne risque pas d'être altéré comme cela se produit quelquefois avec les esters méthyliques (199). La grande difficulté de cette analyse est provoquée par la faible volatilité, les phénomènes d'association et l'adsorption irréversible (83-134) des acides ("queue des pics") sur les colonnes et les appareils.

Plusieurs méthodes ont été proposées pour réduire ces inconvénients :

a) La phase liquide est polaire, même de préférence nettement acide :
ont été proposées : .

- des colonnes de Tween 80 ou Carbowax (5 %) sur Celite 545 pour séparer des acides de bas poids moléculaire (53-175) jusqu'à C₄.

- des colonnes d'Adipate de diéthylène glycol sur Firebrick C22 pour les acides jusqu'en C₈ (78).
- des colonnes formées de 20 % d'adipate de Benzylamine sur Chromosorb W (105) jusqu'en C₆.
- l'injection continue d'un acide volatil ou d'une substance inerte dans la colonne avec le gaz vecteur, comme par exemple l'acide formique (2) et la vapeur d'eau.

b) On ajoute à la phase liquide une substance acide non volatile (67-134-170) suivant la suggestion de MARTIN (83). Cette acidité supplémentaire désactive les sites d'adsorption sur le support solide et empêche la dimérisation des acides gras. C'est à METCALFE (134) que revient le mérite de l'introduction de l'acide phosphorique dans les colonnes d'Adipate de diéthylène-glycol sur lesquelles tous les acides gras saturés ou non jusqu'à C₂₂ sont correctement séparés. D'autres auteurs (174) ont aussi, par la suite, utilisé des systèmes voisins, traités par l'acide phosphorique :

Tween 80 + PO₄H₃ (53-54), Carbowax 6.000, Carbowax 20 M, Apiezon, tous additionnés d'Acide phosphorique.

Dans le même ordre d'idée, on a pu utiliser des supports adsorbants pratiquement inertes (191) comme des microbilles de verre enrobées soit de succinate de polyéthylène-glycol et d'acide phosphorique (52-76) soit de Carbowax 20 M ou d'acide isophtalique (146) soit encore de Teflon 6 enduit de Carbowax (sans acide) (106).

Toutefois, cette solution n'est pas parfaite car avec les mêmes colonnes, des mélanges identiques d'acides gras ne donnent pas les mêmes résultats. Cette anomalie peut être reliée d'une part aux groupements Carboxyl et hydroxyl du Polyester et d'autre part à l'effet de répétition ("Ghosting effect" ou "Repeating effect") (54-174) spécifique des acides gras : c'est l'apparition de pics avec le même T_R que les acides gras préalablement injectés si de l'eau, du méthanol ou des acides à courtes chaînes sont ensuite injectés. Apparemment, il y aurait des acides gras en un point quelconque de l'appareil en particulier sur la laine de verre des bouchons de colonnes. L'augmentation de la concentration en acide phosphorique et le traitement de la laine de verre par cet acide sont en général suffisants pour empêcher ces phénomènes.

De nombreux polyesters ont été étudiés sur ce type de colonne. Les plus intéressants sont l'adipate de diéthylène-glycol (235 - 250°), le succinate d'éthylène-glycol (180°), le succinate de diéthylène-glycol et le néo-pentylglycol succinate (133). Leur domaine d'utilisation d'abord exclusivement réservé aux acides gras s'est étendu aux substances dont l'étude directe en chromatographie en phase gazeuse s'est révélée difficile (comme par exemple les nitriles gras, les amides à longues chaînes).

C'est une colonne de ce type que nous avons utilisée dans nos essais, colonne dont nous verrons les possibilités dans la partie expérimentale.

b) Identification :

Si les conditions opératoires (température, nature et quantités de phase stationnaire, débit du gaz vecteur) sont maintenues constantes, un acide ou un ester méthylique sortira de la colonne toujours dans le même temps. Donc, il suffit de faire auparavant le chromatogramme d'un mélange étalon composé de 4 ou 5 acides connus, puis de tracer la droite Log. de V_R en fonction du nombre de carbone afin de procéder à l'analyse et à l'identification des composants au moyen du graphique obtenu (méthode dite du nombre de Carbone éprouvée par de nombreux auteurs) (6-55-82-147-184-208-209).

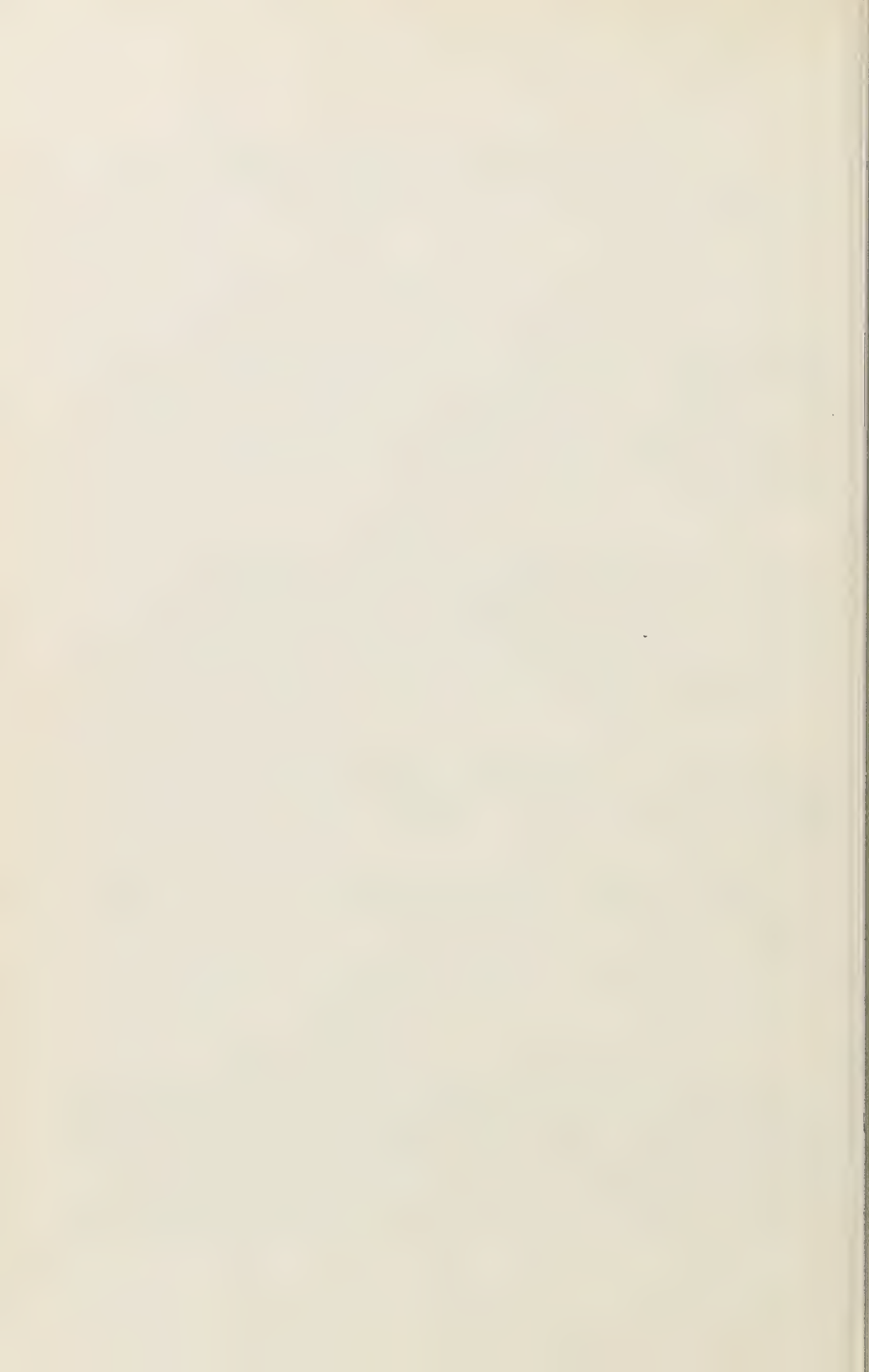
On peut également utiliser un acide témoin (palmitique ou myristique et déterminer sa position sur le chromatogramme du mélange à analyser : ensuite se reporter (si les conditions opératoires sont les mêmes aux tableaux de constantes établis dans la littérature (JAMES en particulier) (86) pour comparer les résultats obtenus et identifier ainsi les acides (procédé peu recommandable en raison des différences qui existent entre les conditions utilisées et celles décrites (114).

Mais la technique la plus couramment utilisée est la comparaison par superposition du diagramme témoin et du diagramme à interpréter, les deux étant réalisés simultanément ou dans un temps très rapproché. C'est la méthode que nous avons d'ailleurs adoptée.

Enfin, on peut aussi compléter l'identification par une série d'examens effectués après récupération des différents produits en sortie de colonne (55 - 71 - 85 - 183 - 210).

II - CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE DES GLYCERIDES.

Les acides gras ou leurs esters méthyliques ne sont pas les seuls à pouvoir être étudiés en chromatographie en phase gazeuse. Les mono et diglycérides sous forme d'acétates sont séparés sur Silicone à 300° (77), les monoglycérides sous forme d'esters allyliques sur Apiezon à 240° (122) et les triglycérides purs sur SE 30 (153) ou " Gas Chrom Q " (108 - 109 - 112 - 120).



C H A P I T R E I I I

REVUE DES TECHNIQUES CHROMATOGRAPHIQUES
RELATIVES AUX NOUVEAUX EXCIPIENTS

La littérature très riche quant aux procédés de fabrication, aux modes de conservation, aux études de passage ou de stabilité des nouveaux excipients est, par contre, très pauvre en ce qui concerne leur analyse. Seuls certains ont fait l'objet de quelques travaux que nous allons résumer brièvement.

Les polyéthylène-glycols d'abord : étant donné le caractère complexe de ces composés, on a cherché en premier lieu à identifier les différents polymères entrant dans la composition d'un mélange. Pour cela, on a utilisé avec un réel succès la chromatographie de leurs esters 3 - 5 dinitro-benzoïques sur papier imprégné de formamide, diméthylformamide ou huile de paraffine (22-60) en prenant certaines précautions indispensables (62). Les mêmes esters sont aussi résolus sur couches minces de Kieselgühr liées à la gomme du Sénégal et imprégnées de formamide ou par chromatographie sur colonne d'alumine imprégnée de formamide (62). Dans le même but, d'autres auteurs ont aussi utilisé la chromatographie en phase gazeuse des esters méthyliques des polyéthylène-glycols sur des colonnes de Silicone SISS (33).

Toutefois, seuls les polymères de bas poids moléculaire, c'est-à-dire liquides peuvent être ainsi analysés. Pour les termes supérieurs, on peut utiliser soit la chromatographie sur papier en une seule dimension (89) avec le mélange classique de Partridge, soit une bidimensionnelle en ajoutant un développement secondaire dans une deuxième phase alcaline (40 - 41 - 42 - 43). Les différents

polyéthylène-glycols sont révélés par le réactif de Draggendorf modifié par Munier, Macheboeuf (144).

Enfin, tout récemment, on a proposé des techniques de chromatographie en couches minces qui permettent la séparation de tous les polymères : l'une utilise le gel de silice avec comme solvant le Chloroforme-méthanol-eau (3:25:12) (110), l'autre la silice ou l'alumine avec comme solvants des mélanges en proportions variables d'acétone-ammoniaque (26).

De nombreuses réactions colorées ont été mises au point (15 - 193 - 194 - 211) mais les résultats sont assez discutés (177) ; seul le réactif de Dragendorff permet la mise en évidence de trace de ces substances dans un mélange (27).

Les Spans aussi ont fait l'objet de plusieurs travaux : en premier lieu recherche et analyse des différents dérivés (34-95-189) puis dosage dans les produits alimentaires (204) ou dans certaines préparations pharmaceutiques (61) et enfin caractérisation de la partie Sorbitane (80).

Enfin, les agents de surface cationiques (ammonium quaternaires en particulier) ont été aussi analysés en chromatographie en couches minces sur Silicagel (107 - 212) ou alumine (107) avec comme solvant du benzène, de l'éthanol, de la butanone (107), de l'hexane, etc... en de nombreuses combinaisons.

La conclusion de cette partie bibliographique s'impose d'elle même : toutes les études décrites ne sont relatives qu'à des groupes de produits et non pas à des mélanges. Le problème n'a été à notre connaissance qu'à peine effleuré (23 - 188). Toutes les techniques relatées ne pouvaient nous servir que pour caractériser les différents composants des mélanges après leur isolement.

Il nous faut maintenant aborder le problème de l'analyse proprement dite.

$\frac{1}{2} - \frac{1}{2} = 0$

TROISIEME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES



AVANT-PROPOS

Etant donné la diversité et le nombre d'excipients, le premier problème qui s'est posé est celui du choix du produit de base à partir duquel les recherches pourraient se faire. Nous avons donc choisi, arbitrairement, un excipient classique bien connu et avons décidé, après l'avoir étudié, comme si nous en ignorions la composition exacte, de l'additionner successivement d'abord d'anciens excipients, puis d'excipients modernes et ainsi chaque fois nous avons tenté de caractériser, puis de séparer et enfin de doser dans la mesure du possible les constituants du mélange formé. Ceci étant réalisé, nous avons étendu ces techniques à quelques excipients commercialisés.

Il est naturellement évident que si nous ne dévoilons pas la composition exacte de ces différents excipients (en raison de certains impératifs déontologiques) nous donnons quand même un aperçu de leur comportement au cours des différentes analyses, comportement généralement conforme à la notice éditée par le fabricant.

— : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — : — :

Le choix de l'excipient type de base était, nous l'avons déjà dit, difficile. Comme dans la plupart des cas c'est toujours un produit gras végétal ou animal qui est à la base d'un excipient, nous avons choisi le Beurre de Cacao pour effectuer nos essais. Si on fait abstraction de tout ce que l'on a écrit sur ce produit au sujet de sa composition pour ne retenir qu'il est formé principalement de glycérides, notre premier but sera donc d'étudier sa composition glycéridique.

$$\frac{1}{2} - \frac{1}{3} = \frac{1}{6} \quad \frac{1}{3} - \frac{1}{4} = \frac{1}{12} \quad \frac{1}{4} - \frac{1}{5} = \frac{1}{20} \quad \frac{1}{5} - \frac{1}{6} = \frac{1}{30} \quad \frac{1}{6} - \frac{1}{7} = \frac{1}{42}$$

C H A P I T R E I

ETUDE DES GLYCERIDES DES MATIERES GRASSES PAR LA COMBINAISON DES CHROMATOGRAPHIES EN COUCHES MINCES ET EN PHASE GAZEUSE.

Le premier obstacle qui s'élève dans une telle étude est celui de la révélation de la chromatographie et par là même de la récupération éventuelle des différents spots obtenus. Or, en se reportant à la description détaillée des méthodes de détection des matières grasses en chromatographie sur couches minces et sur papier (20 - 128 - 160), on voit que la plupart des auteurs pulvérisent sur leur chromatogramme, soit des indicateurs fluorescents, soit des réactifs chimiques assez corrosifs.

Il n'est donc pas toujours possible de récupérer les divers spots obtenus en vue d'une étude poussée, car si les réactifs n'ont pas dégradé irrémédiablement les produits, leur élimination après récupération nécessite une suite de manipulations souvent longues (59).

D'autre part, l'identification des différentes classes de glycérides est, dans ces conditions, assez laborieuse car il faut réaliser toute une série de chromatographies adaptées à chaque catégorie. Toutefois, ces dernières années ont été proposées (103 - 200) diverses méthodes d'identification rapide des glycérides sur un seul chromatogramme, mais celles-ci sont de réalisation relativement difficile.

Grâce à l'introduction dans la technique de chromatographie en couches minces de supports fluorescents à 254 m μ et surtout à 366 m μ , il est maintenant facile de repérer les divers spots sur la plaque et de récupérer sans altération les substances correspondantes en grattant le support et en éluant le produit fixé.

En utilisant un support de ce type, nous avons mis au point une technique de chromatographie en couches minces analytique, facilement transposable à l'échelle préparative qui permet l'analyse et l'identification rapide de diverses catégories de glycérides.

A - TECHNIQUES PROPOSEES :

a) Chromatographie en couches minces analytique :

La séparation est réalisée sur plaques recouvertes de gel de silice Merk H. F. 254 + 366 m μ . L'expérience nous a montré que pour obtenir des plaques convenables, il fallait les préparer de la façon suivante :

35 g de silice sont mélangés au mortier avec 85 g d'eau distillée et le mélange est étalé sur 5 plaques de verre de 20 x 20 cm, au moyen de l'étaleur " Desaga " pour avoir des couches de 0,35mm d'épaisseur environ. Il faut opérer assez vite, car malgré l'absence de liant dans le support, la prise en masse est très rapide.

Après séchage, les plaques sont ensuite activées par chauffage à l'étuve à 110° pendant une heure. Les matières grasses en solution dans un mélange chloroforme-méthanol (2:1), sont déposées à 1,5 cm du bord inférieur de la plaque sous forme d'un petit trait de 1 à 2 cm de long. Pour éviter le chevauchement possible des spots, la plaque est divisée en pistes de 2 à 3 cm de large. A noter que les plaques doivent être toujours " récemment " activées.

b) Chromatographie en couches épaisses préparative.

La préparation des plaques s'effectue comme précédemment mais les proportions sont augmentées : pour 5 plaques de 20 x 20 cm, d'une épaisseur de :

- 0,5 mm, il faut 60 g de silice et 140 g d'eau
- 1 mm, il faut 120 g de silice et 270 g d'eau
- 2 mm, il faut 240 g de silice et 520 g d'eau.

Le mélange doit être le plus homogène possible : l'utilisation d'un batteur électrique de ménage pendant 3 minutes s'est révélé efficace. Il faut utiliser un étaleur de grande capacité + et fractionner la préparation d'une série de plaques pour éviter un chargement de l'étaleur pendant l'application du mélange liquide.

+ Etaleur G V Desaga (Importateur exclusif : Roucaire, Paris).

On peut utiliser indifféremment des plaques standard 20 x 20 cm ou des plaques préparatives de 20 x 40 cm.

En raison de l'épaisseur de la couche, le séchage des plaques est beaucoup plus long (30 à 45 mn au moins), de même que l'activation (1 h 30 à 110°). Les plaques sont conservées dans un exsiccateur sous gel bleu, mais après 48 heures de conservation, il est prudent de les activer à nouveau pendant 30 minutes à 110°, juste avant l'emploi pour obtenir une bonne séparation.

Les quantités maximales de produit à chromatographier que l'on peut déposer sur les plaques vont de 100 mg pour une plaque de 20 x 20 cm de 0,5 mm d'épaisseur jusqu'à 500 mg pour celles de 1 mm d'épaisseur. Ces quantités de substances étant relativement importantes, on a remplacé le procédé de dépôt par pipettes par un "applicateur automatique de bande"++ qui permet d'avoir une ligne de départ homogène, régulière et parfaitement délimitée.

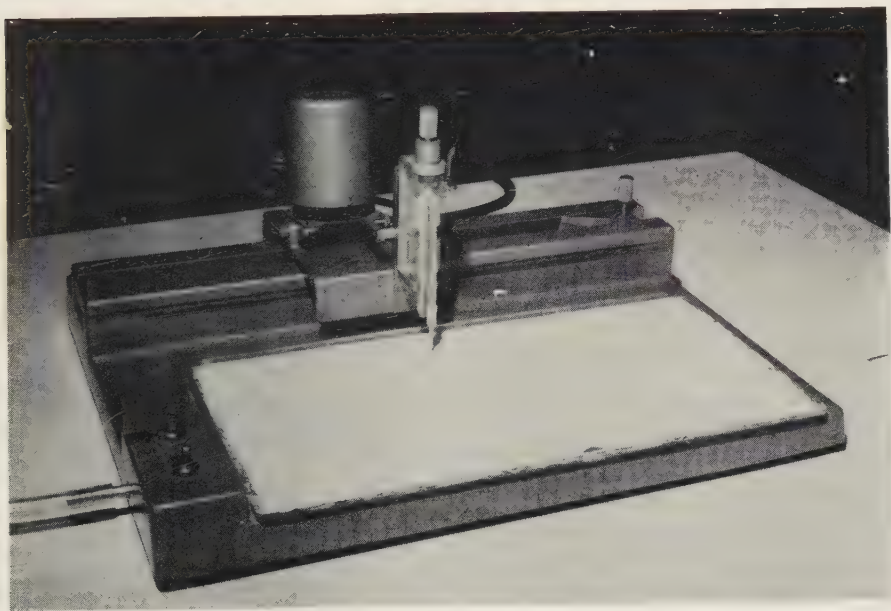


Figure 2 : Dispositif de dépôt des solutions.

Cet appareil (figure 2) comprend :

- un socle destiné à une plaque 20 x 40 cm ou une plaque de 20 x 20 cm, sur lequel est fixé un moteur qui actionne un système d'inversion permettant le balayage total mais réglable de la couche.

- Un réservoir en verre (fixable sur le moteur), de contenance environ 20 ml, muni d'une canule en verre terminée par un fin capillaire.

- Une source d'air comprimé représentée par un compresseur à membrane à vitesse et à débit variables.

c) Protocole expérimental.

Pour les deux techniques, le développement se fait par la voie ascendante dans des cuves quadrangulaires, en utilisant comme solvants les systèmes suivants :

| | | |
|-------|------------------------------------|--------------|
| - 1 - | Ether de Pétrole (Pt. Eb. 45°-70°) | 70 parties |
| | Ether Ethylique pur | 30 parties |
| - 2 - | Ether de Pétrole (Pt. Eb. 45°-70°) | 30 parties |
| | Ether Ethylique pur | 70 parties |
| - 3 - | Ether Ethylique pur | 100 parties. |

Après dépôt des échantillons, une première migration est effectuée avec le système 1. Lorsque le solvant atteint la limite fixée (10-15 cm de la ligne de départ - Temps de migration 20-25 minutes), la plaque est retirée de la cuve, séchée à la température ambiante, puis examinée aux rayons ultra-violet à 366 m μ : les différents composants se distinguent par une fluorescence violette vive sur un fond violet terne, l'importance et la luminosité des taches étant fonction naturellement de leur proportion dans le produit étudié.

Dans la figure 3 sont rassemblés, à titre d'exemple, trois produits officinaux classiques (l'axonge, le beurre de cacao, l'huile d'amandes douces) et deux excipients modernes (1 et 2) + répondant à la définition des glycérides semi-synthétiques du Codex 1965. A quelques rares exceptions près, il n'était pas techniquement possible de réaliser des photos en U.V. directement. Les figures représentées sont obtenues en décalquant exactement le chromatogramme sous la lumière U.V.

Malgré la diversité des origines, on retrouve les trois mêmes groupes de spots :

- le premier, très proche de la ligne de départ rf # 0 à 0,05 : l'expérience nous a montré qu'il correspondait aux monoglycérides.
- le second de rf # 0,20 est formé par les diglycérides.
- le troisième de rf # 0,85 - 0,9 correspond aux triglycérides.

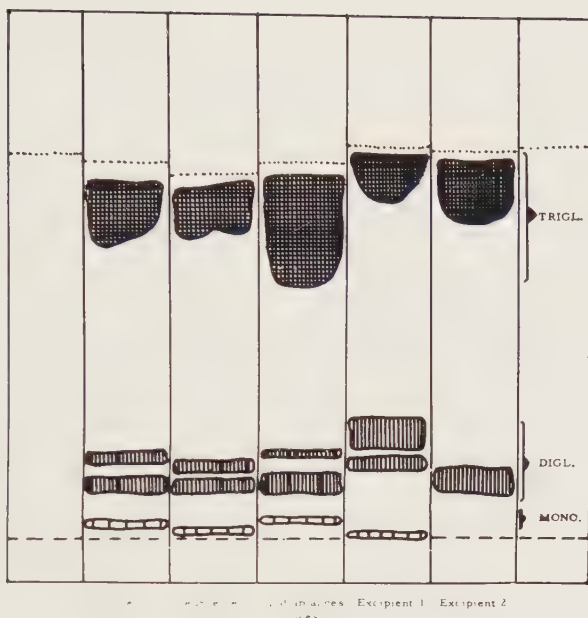


Figure 3 - Séparation des glycérides avec le système de solvant 1 .

(L'importance du quadrillage est proportionnel à l'intensité de la fluorescence).

Un repère est alors tracé sous le spot des triglycérides et la plaque est placée dans une seconde cuve contenant le système 2 qu'on laissera migrer jusqu'au repère (15 - 20 minutes). Après séchage, on examine à nouveau la plaque aux rayons ultra-violet à $366\text{ m}\mu$. Les résultats sont représentés dans la figure 4 : on distingue deux groupes de spots, le premier de rf # 0,20 correspond aux monoglycérides, le second de rf # 0,50 correspond aux diglycérides nettement fractionnés. (Pour plus de commodité, les rf. sont calculés toujours par rapport au front du solvant 1). Puis on fait encore un repère sous le spot des diglycérides et on met la plaque dans une troisième cuve avec le système 3 qu'on laissera migrer jusqu'au repère (5 à 10 minutes). Cette dernière migration permet d'avoir ainsi la résolution des monoglycérides (Figure 5) mais il faut signaler que cette migration qui n'a présenté aucun intérêt dans l'étude des matières grasses naturelles où les monoglycérides sont en très faible proportion s'est, par contre, révélée extrêmement intéressante dans l'étude des excipients complexes pour différencier les monoglycérides de certains agents émulsionnants (comme nous le verrons dans le chapitre suivant).

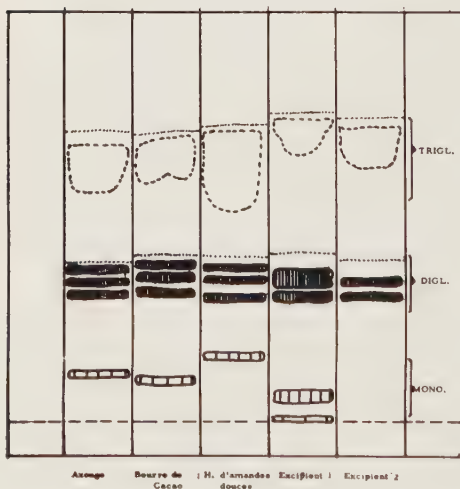


Figure 4 : Séparation des Glycérides avec le système de solvant 2. (L'importance du quadrillage est proportionnel à l'intensité de la fluorescence)

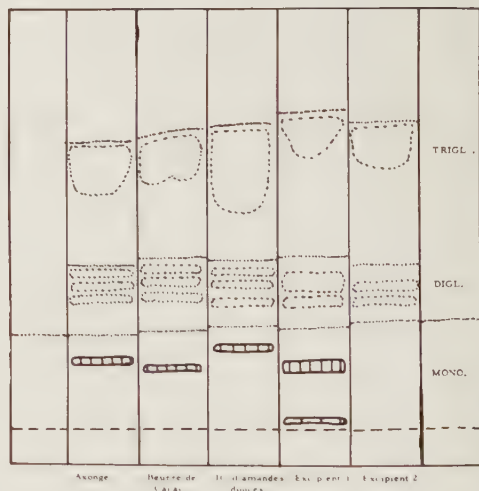


Figure 5 : Séparation des glycérides avec le solvant 3 (L'importance du quadrillage est proportionnel à l'intensité de la fluorescence).

Ce protocole expérimental est valable pour les deux types de chromatographie . Cependant, dans le cas de la préparative, il est préférable de récupérer au fur et à mesure les différents spots obtenus après passage de chaque système de solvant. Pour cette récupération, on utilise un collecteur de zone⁺ en verre formé d'un cône mâle sur lequel on peut adapter une cartouche de Soxhlet et qui s'emboîte par un rôdage sur un tube femelle relié à un compresseur aspirant (Figure 6).

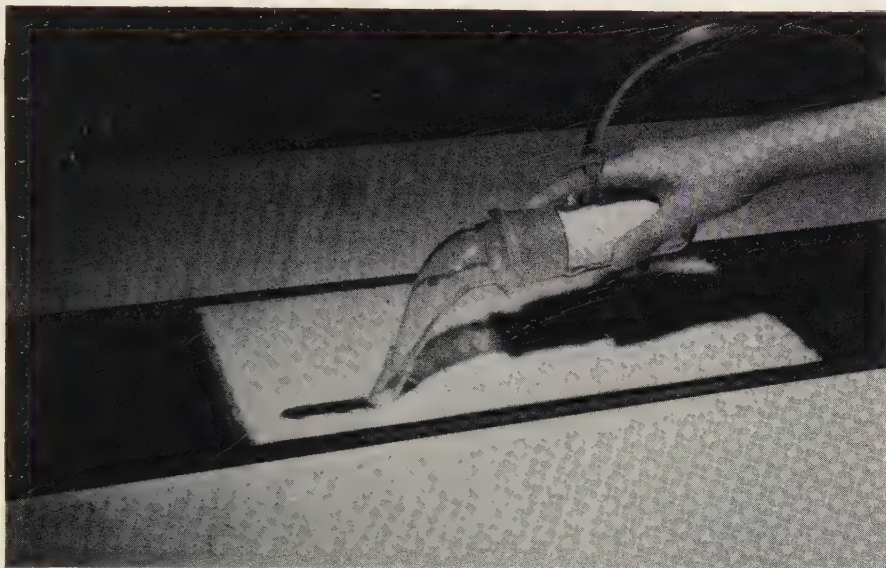


Figure 6 - Dispositif de récupération.

Il suffit, après avoir réglé le débit de la succion de poser avec précaution l'embout souple de l'appareil sur une extrémité de la bande contenant le produit recherché et de faire glisser le collecteur sur toute la longueur de cette bande : on réalise ainsi l'aspiration totale du produit mélangé à l'adsorbant, produit que l'on récupère par un épuisement, d'une durée de 2 heures au maximum, dans un appareil de Soxhlet au moyen d'un solvant (Hexane, Chloroforme).

B - ETUDE QUALITATIVE et QUANTITATIVE des GLYCERIDES OBTENUS.

Nous sommes donc en présence, maintenant, de différentes classes de glycérides récupérés dont nous avons vérifié la pureté par une rapide chromatographie analytique : il nous reste à étudier leur composition, c'est à dire le nom des différents acides gras

+ Collecteur de zone DESAGA.

estérifiants et leur proportion dans le mélange en même temps que seront déterminées quelques constantes physicochimiques intéressantes qui complètent l'étude analytique. A ce niveau s'est alors élevé le problème de la quantité de matériau mis en oeuvre : il est certain que, par exemple, pour les triglycérides du Beurre de Cacao (en proportion de 97,64 %) la mise en oeuvre de 1 g de produit permet la récupération d'une quantité suffisante pour de nombreux essais. Par contre, pour les di ou les monoglycérides, dont les proportions sont assez faibles (1,5 % et 0,80 %, respectivement), ce problème se pose car, malgré la rapidité de la récupération par analyse chromatographique, les quantités mises en jeu pour obtenir un échantillon intéressant sont très importantes et rendent peu rentable et même fastidieuse cette récupération.

Il nous fallait donc, à partir d'une prise d'essai unique réaliser toutes nos déterminations, ce qui permettait de conserver une partie de l'échantillon pour des vérifications éventuelles.

Quelles seront les déterminations effectuées ?

- D'abord l'Indice d'acide : c'est le nombre de milligrammes d'Hydroxyde de Potassium nécessaires pour neutraliser les acides libres dans un gramme de substance. Cet indice qui paraît superflu quand il s'agit de glycérides s'est révélé néanmoins intéressant pour affirmer de façon quasi certaine la pureté et le bon état de l'échantillon mis en jeu. De plus, comme nous le verrons plus bas, sa détermination ne complique en rien les autres manipulations.

- Puis l'Indice de Saponification : classiquement, on le définit comme le nombre de milligrammes d'Hydroxyde de Potassium nécessaires pour saponifier les esters contenus dans un gramme de substance.

L'intérêt de la détermination de cet indice pour l'étude des matières grasses n'est pas à commenter mais, pour notre part, il nous a permis, tout en préparant la voie, pour l'étude et le dosage de la glycérine et des acides gras, de vérifier les poids théoriques respectifs des deux composants, après avoir identifié les acides gras estérifiants. Au point de vue manipulation, c'est la suite logique de l'indice d'acide.

- Dosage de la glycérine libérée par la saponification : ce dosage est effectué avec de nombreuses précautions sur la solution provenant de la saponification après élimination des acides gras.

- Détermination du pourcentage des acides gras totaux : les acides gras sont extraits en bloc de la solution de saponification.

- Et, enfin, identification et détermination du pourcentage individuel des acides gras composant les glycérides.

Ces dernières déterminations sont réalisées en chromatographie en phase gazeuse.

Sur le tableau X sont résumés l'ordre et les modalités de cette série de déterminations en chaînes.

I - DESCRIPTION DES DIFFERENTES METHODES UTILISEES

1 - Indice d'Acide.

L'acidité exprime en pourcentage la teneur de la substance en acides gras libres.

Principe : c'est une mesure acidimétrique type.

Réactifs : a) alcool à 95° neutralisé à l'aide de K OH alcoolique N/10 en présence de Phénolphthaléine. D'autres alcools peuvent être utilisés si les substances ne sont pas très solubles dans l'alcool éthylique. L'alcool isoamylique peut être substitué facilement à l'éthanol. Il faut surtout éviter l'usage de l'éther éthylique ou d'un mélange éther-alcool .

b) solution alcoolique décimale d'hydroxyde de Potassium récemment préparée selon la technique Codex.

Mode opératoire : Une prise d'essai p voisine de 0,20 g est placée dans un petit ballon de 100 ml.

Ajouter 10 ml d'alcool exactement neutralisé. Agiter jusqu'à dissolution (chauffer légèrement si nécessaire).

Puis ajouter II gouttes d'une solution alcoolique à 1 % de Phénolphthaléine et,

Titrer l'acidité à l'aide de K OH N/10.

Pour les glycérides récemment récupérés, cet indice est toujours faible : n ~~≠~~ 0,1 ml.

2 - Indice de saponification .

C'est plus exactement l'indice d'ester qui est déterminé si l'on se réfère à la définition de l'indice de saponification énoncée par le Codex 1965 : c'est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité d'Hydroxyde de Potassium nécessaire pour neutraliser les acides libres et pour saponifier les esters existants dans un gramme de substance.

L'indice d'ester est le nombre qui exprime en milligrammes la quantité de K OH nécessaire pour saponifier les esters existants dans 1 gramme de substance.

I.S. = Indice d'acide + Indice d'ester.

Principe : Une certaine quantité de substance est hydrolysée par une quantité connue en excès d'hydroxyde de Potassium. On titre par retour l'hydroxyde de Potassium non fixé.

Réactifs :

K OH alcoolique N/10

H Cl N/10

Mode opératoire : La liqueur précédente qui a servi à déterminer l'indice d'acide est additionnée d'une quantité suffisante de K OH pour arriver à 15 ml au total. Cette addition se fait au moyen de la burette qui a servi à déterminer le premier indice. La liqueur est franchement teintée par la Phénolphthaléine.

Adapter ensuite un réfrigérant à reflux et porter à douce ébullition pendant 60 minutes.

Refroidir. Diluer par 25 ml d'eau distillée.

Titrer en retour à l'aide de la solution d'H Cl N/10 jusqu'à décoloration totale.

Réaliser dans les mêmes conditions un essai témoin sans utiliser de substance, mais qui sera lui aussi additionné de II gouttes de Phénolphthaléine avant le chauffage.

Quelques remarques :

La détermination de cet indice en apparence si facile est pourtant assez délicate et semble être fonction de très nombreux facteurs : le premier est celui du poids de la prise d'essai : plus ce poids est faible, et plus les résultats sont sujets à caution (en particulier pour les di et monoglycérides). Une série de déterminations sur le même produit (le Beurre de Cacao), dans les mêmes conditions, nous ont donné des résultats allant de 185 à 205, avec une moyenne de 194, sur une prise d'essai de 0,2 g. Ces différences semblent dues à des variations dans le chauffage de la solution (verre plus ou moins épais du ballon, chauffe-ballon plus ou moins rapide pour atteindre la température), à la fraîcheur relative de K OH, à l'origine des glycérides utilisés (naturels ou synthétiques). Les conditions de manipulation indiquées ne sont donc pas impératives et il est bon avant de donner un résultat d'adapter la technique au cas d'espèce considéré en faisant quelques essais à la fois sur la substance brute et sur les produits isolés. D'ailleurs ces réserves avaient été faites aussi par PAQUOT et ses Collaborateurs dans leur exposé sur la détermination de cet indice (149).

3) Détermination du poids total des Acides gras.

Principe : Dans la liqueur de saponification les acides gras se trouvent sous forme de savons solubles. Il suffit de les déplacer de leurs sels par un acide fort, de les extraire par un solvant organique et après évaporation du solvant de peser le résidu.

Réactifs :

H Cl concentré
Ether de pétrole.

Mode opératoire : A la liqueur de saponification, ajouter goutte à goutte 4 ml d'H Cl concentré. Les acides gras libérés précipitent s'ils sont solides ou forment une pellicule huileuse à la surface de la solution s'ils sont liquides. Mettre la solution 20 à 30 mn dans un bain de glace à -5° pour achever la précipitation des acides gras.

Remarques importantes : Si l'apparition des acides gras n'est pas nette, il faut ajouter 10 à 15 ml d'eau pour augmenter la dilution. Il est, de plus, bon de vérifier si on n'a pas utilisé un mélange alcool-éther pour dissoudre les glycérides au début, auquel cas les acides gras libérés passent directement dans l'éther et ne forment ni précipité ni pellicule.

Ajouter ensuite 10 ml d'Ether de pétrole et transvaser la solution obtenue dans une ampoule à décanter de 500 ml. Agiter quelques minutes et laisser reposer jusqu'à apparition de deux phases limpides. Rincer le ballon avec 10 ml d'éther de pétrole et recueillir la phase aqueuse en la laissant tomber goutte à goutte dans cet éther de pétrole. Agiter la solution obtenue et transvaser à nouveau dans l'ampoule. Refaire dans les mêmes conditions une troisième extraction. Laisser décanter et recueillir la phase aqueuse dans un bécher de 500 ml. Laver alors l'éther de pétrole resté dans l'ampoule par une solution d'alcool à 50 % (4 fois 5 ml) et ajouter cet alcool de lavage à la liqueur aqueuse précédente qui sera conservée.

Verser la solution étherée par la partie supérieure de l'ampoule dans une fiole contenant du Sulfate de Soude anhydre. Laisser reposer une heure en agitant de temps en temps. Puis décanter cette solution dans un récipient taré et évaporer le solvant dans une étuve ventilée à 40° - 50° . Après évaporation complète, peser le récipient après refroidissement dans un exsiccateur

Une prise aliquote de ce résidu va servir à l'identification des différents acides gras.

4 - Analyse des Acides Gras.

Elle est effectuée en chromatographie en phase gazeuse.

a) Matériel utilisé.

L'appareil est un Aerograph 705 Autoprep adapté à l'analyse (la sortie vers le collecteur est bouchée).

Gaz vecteur : Azote R - Débit 45 ml/minute.

Détecteur : Ionisation de flamme (débit d'Hydrogène 25 ml/minute).

Température d'utilisation : 210°.

Colonne : colonne en Inox de "5 1/8 de pouce " contenant 20% de Succinate de Diéthylène-glycol + 2 % d'acide phosphorique sur Firebrick 80/100 Mesh. Cette colonne permet l'analyse et la séparation.

- des nitriles crotoniques cis, trans, vinylacétique (4),
- des acides vinylacétique , acrylique , métacrylique , maléique , Dithiophosphorique , benzoïque , etc...
- et surtout des acides gras aliphatiques de C1 à C20, directement sans méthylation préalable et surtout à une température unique de 185°.

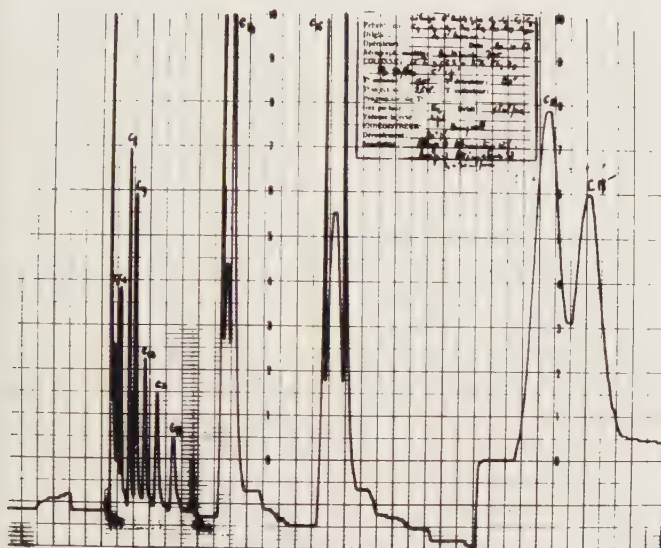


Figure 7 :
Chromatogramme des acides
gras directs de C₄ à C₁₈

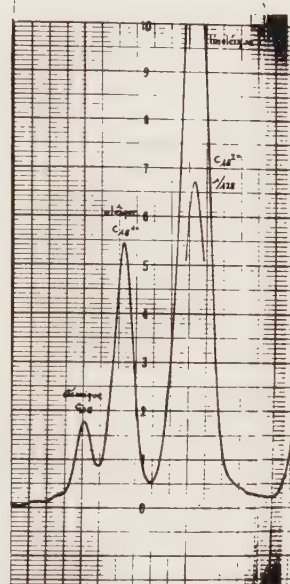


Figure 8 :
Chromatogramme des acides
gras directs en C₁₈

Sur la figure 7 est représenté un chromatogramme montrant une séparation complète des acides gras directs de C₄ à C₁₈ (oléique) à cette température. La figure 8 représente particulièrement la séparation des acides stéarique, oléique et linoléique.

b) L'identification est obtenue par comparaison directe avec un chromatogramme d'acides gras témoins réalisé dans les mêmes conditions quelques instants avant l'analyse.

c) Calcul des pourcentages :

Ce calcul est effectué par la méthode de triangulation en multipliant la hauteur du pic par la base mesurée à mi-hauteur en tenant compte de la sensibilité de l'appareil. Les résultats sont exprimés en pourcentage d'acides gras directement.

d) Protocole et résultats :

Les acides gras des glycérides du Beurre de Cacao extraits après acidification sont mis en solution dans l'hexane et injectés directement dans la colonne.

Les figures 9, 10, 11 et 12 représentent respectivement les chromatogrammes des acides gras:

- du Beurre de Cacao total (9)
- des triglycérides du Beurre de Cacao (10)
- des diglycérides du Beurre de Cacao (11)
- des monoglycérides du Beurre de Cacao (12).

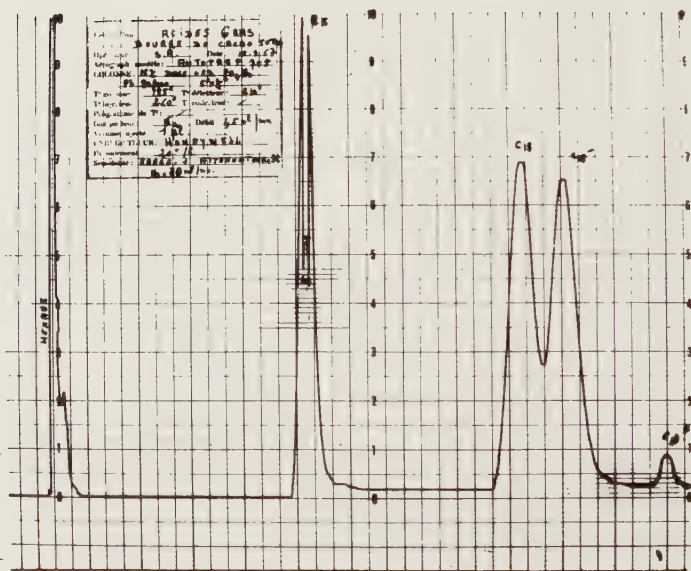


Figure 9 - Chromatogramme des acides gras du Beurre de Cacao total (quantité injectée : 1 microlitre dans Hexane).

Figure 10 : Chromatogramme des acides gras des triglycérides du Beurre de Cacao (quantité injectée 2 microlitres dans Hexane).

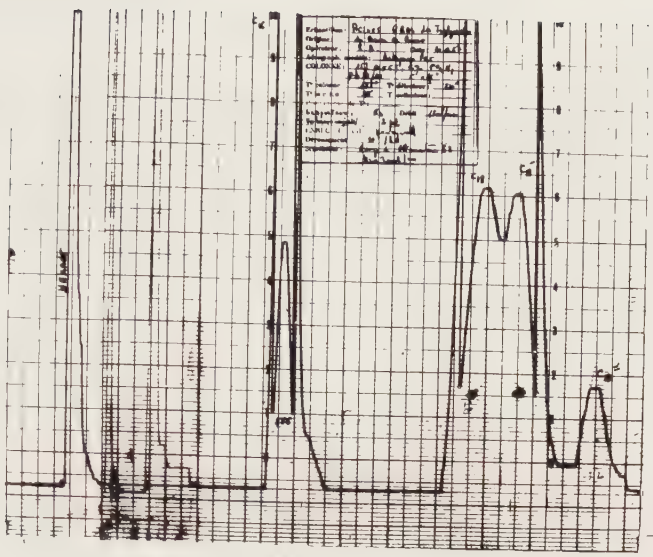


Figure 11 : Chromatogramme des acides gras des diglycérides du Beurre de Cacao. (quantité injectée : 2 microlitres dans Hexane).

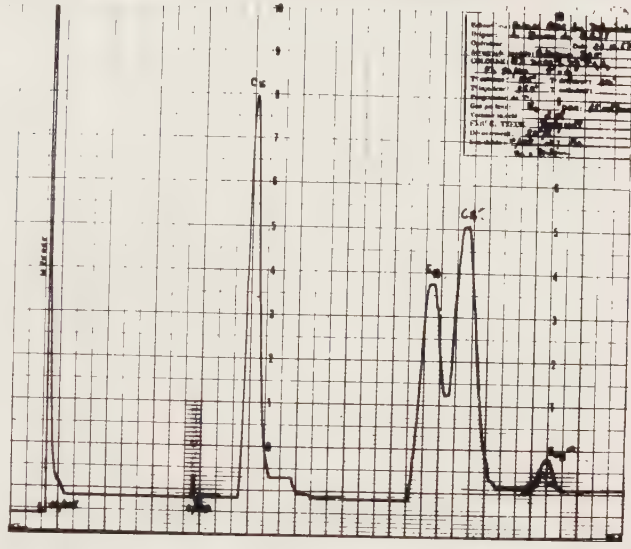
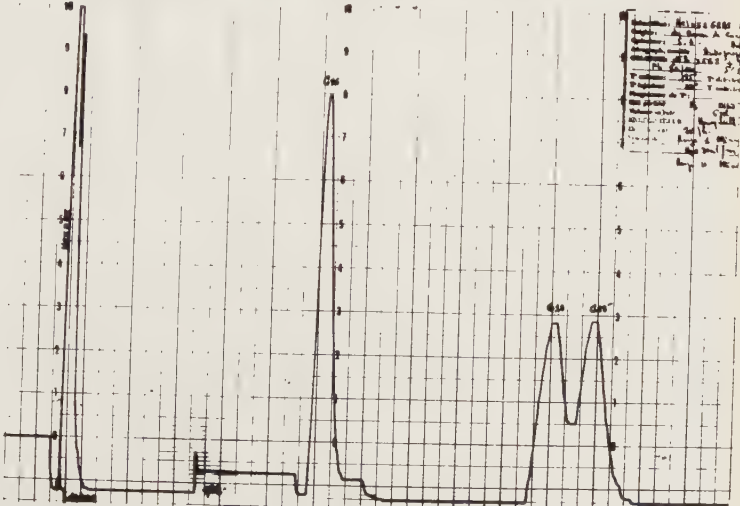


Figure 12 : Chromatogramme des acides gras des monoglycérides du Beurre de Cacao (quantité injectée: 5 microlitres).



Remarque :

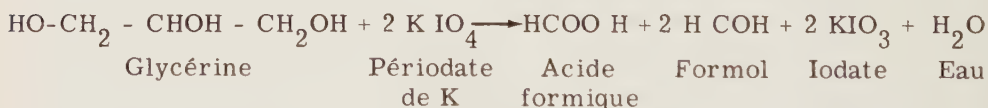
Un point très important à signaler : la chromatographie des acides gras doit être réalisée dans les trois heures qui suivent leur récupération car nous avons pu constater, au cours de nos expériences, la rapide dégradation par oxydation des acides gras mono et diinsaturés, ce qui a pour conséquence la disparition totale ou partielle de ces acides et donc d'amener une erreur dans les résultats. Pour la conservation de ces acides gras, il convient de substituer l'anhydride carbonique à l'air contenu dans le flacon, de le reboucher et de le placer à l'abri de la lumière (149).

5 - Dosage de la Glycérine.

De très nombreuses méthodes ont été mises au point pour le dosage du Glycérol. Elles sont, pour la plupart, basées sur le même principe : celui de l'oxydation des fonctions alcools en acides par un oxydant puissant. Seules les modalités terminales diffèrent : dosage protométrique de l'acide formé, dosage de l'excès d'oxydant par un double retour, dosage colorimétrique d'un complexe formé entre un produit de l'oxydation et une substance particulière (151).

Pour notre but, il était intéressant de choisir une technique simple, assez précise et surtout pratique et rapide, permettant le dosage en série. Nous avons adapté la technique de Malaprade à nos besoins (123).

Principe : En faisant réagir une solution tiède (37° à 40°) de métapériodate de potassium sur une solution de Glycérol, la scission oxydante donnant une molécule d'acide formique est pratiquement immédiate.



Le dosage de l'acide formique se fait par une liqueur d'hydroxyde de potassium titrée, en présence de pourpre de bromocrésol comme indicateur (pH : 5,2 à 6,8). Auparavant, l'excès de périodate de potassium qui gênerait le dosage est détruit par addition d'éthylène-glycol qui lui, ne donne que du formol par oxydation.

Réactifs :

- Solution à 1,4 % de métapériodate de potassium préparée par dissolution à chaud sur platine chauffante (45°) munie d'un agitateur dans un ballon jaugé ajusté à froid. Cette solution est conservée dans une étuve à 37° - 40° entre les dosages avec, au fond du flacon, un bâtonnet aimanté qui permet une homogénéisation de la solution juste avant l'emploi en la portant sur platine chauffante. Si la solution est conservée à cette température, le périodate ne recristallise pas.

- Solution neutralisée d'Ethylène-Glycol : de conservation limitée, elle doit être préparée quotidiennement : un mélange à parties égales d'Ethylène-Glycol et d'eau est exactement neutralisé par de l'acide sulfurique N en présence de pourpre de bromocrésol jusqu'à coloration bleu verdâtre. On déterminera ensuite le nombre de millilitres de cette solution qu'il faut pour neutraliser ou plus exactement pour décomposer totalement la quantité de solution de périodate qui servira au dosage. On relève ensuite la quantité moyenne de 3 essais au moins.

- Liqueur aqueuse titrée d'hydroxyde de potassium 0,1 N
- Liqueur aqueuse titrée d'acide sulfurique N
- Pourpre de bromocrésol en solution aqueuse à 0,1 % .

Mode opératoire :

La liqueur aqueuse restant après l'extraction des acides gras est mise à concentrer au bain-marie jusqu'au tiers de sa totalité (pour éliminer l'alcool) puis transvasée dans un ballon de 50 ml et ajustée.

Cette solution est alors transvasée dans un bécher de 250 ml (avec les eaux de lavage du ballon jaugé) puis neutralisée d'abord approximativement par des pastilles de K OH et, ensuite, exactement par une solution de K OH N/10 en présence de pourpre de bromocrésol jusqu'au virage du jaune au bleu.

A la liqueur exactement neutralisée (bleu clair), ajouter avec une pipette sèche et tiède, 15 à 20 ml de solution tiède de Périodate à 1,4 % (suivant la quantité de Glycérol que l'on pense avoir dans la solution) et porter le bécher sur platine chauffée à 37°-40° en agitant constamment avec un bâtonnet magnétique pendant 15 minutes.

Mettre ensuite dans le bécher la quantité de solution d'éthylène-glycol nécessaire pour décomposer complètement tout le Périodate mis en œuvre. Laisser en contact 5 minutes en agitant doucement. En présence de glycérine, la solution reste colorée en jaune, sinon elle vire au bleu.

Titrer ensuite par K OH N/10 au moyen d'une microburette de 2 ml, jusqu'au virage au bleu persistant.

Calculs :

Soit n le nombre de ml de K OH nécessaire à la neutralisation, p la prise d'essai.

$$\frac{n \times 9,2}{p} = \text{taux de glycérine } \%$$

Remarques :

Cette technique appelle quelques remarques importantes :

1) Il est très important de ne pas utiliser d'éther éthylique pour l'extraction des acides gras, ni pour la dissolution du glycéride si - non une partie de la glycérine se trouverait entraînée et ne serait donc pas dosée.

2) La solution d'éthylène-glycol neutralisée, utilisée pour décomposer l'excès de périodate doit avoir une légère teinte verte et non jaune franc, ce qui risquerait de fausser le résultat par excès d'acide.

D'autre part, à la fin de l'essai à blanc avec l'éthylène-glycol et le Périodate en l'absence de glycérine, la solution vire au bleu franc (en raison probablement des sels de Potassium formés). Cette teinte bleue est d'ailleurs ramenée au jaune franc par l'addition de 100 γ d'acide formique.

3) Le virage du pourpre de bromocrésol n'est gêné en rien par la présence dans la solution initiale de la phénolphthaléine qui a servi aux premiers indices. En effet, les pH alcalins de virage sont assez éloignés : 6,8 pour le pourpre de bromocrésol et 9,2 pour la phénolphthaléine. En cas d'excès de liqueur alcaline, la solution prend une teinte bleu-violacée (combinaison du bleu et du violet).

4) Ce dosage de la glycérine nous a permis de vérifier que nous étions bien en présence de glycérides. Aucun résultat n'est pour cette raison indiqué. L'identification de la glycérine se réalise, par ailleurs selon les techniques classiques.

II - APPLICATION DE CES METHODES A QUELQUES EXCIPIENTS.

a) Le Beurre de Cacao.

Au fur et à mesure de l'exposé, ont été schématisés les comportements du Beurre de Cacao. Aussi, sur les tableaux suivants les résultats sont-ils simplement résumés : le tableau XI représente les pourcentages des acides gras du Beurre de Cacao total comparés avec les valeurs relevées dans la littérature. Le tableau XII représente le pourcentage des différents acides gras dans les trois classes de glycérides étudiés.

Ces résultats, comme on peut facilement le constater sont en accord avec les données bibliographiques.

| ACIDES | RESULTATS
TROUVES | RESULTATS RELEVES
DANS LA
LITTERATURE | REFERENCES |
|-------------------|----------------------|---|--|
| C ₁₆ | 27,17 % | de 15,4 à 28,6 % | 50.94.167
166.168.11
172.206
35.180.132
72.36.37.207
21.181.182
18.213 |
| C ₁₈ | 34,92 % | de 34,2 à 41,39 % | |
| C ₁₈ - | 36,07 % | de 33,4 à 43,37 % | |
| C ₁₈ = | 1,78 % | de 1,2 à 4,2 % | |

TABLEAU XI

LES ACIDES GRAS DU BEURRE DE CACAO TOTAL

| POURCENTAGE
DES GLYCERIDES | | POURCENTAGE DES ACIDES GRAS | | | |
|-------------------------------|-------|-----------------------------|--------------|------------|---------------|
| Glycérides | % | A. Palmitique | A. Stéarique | A. Oléique | A. Linoléique |
| Triglycérides | 97,64 | 27,25 % | 34,18 % | 36,65% | 1,84 % |
| Diglycérides | 1,5 | 31,82 % | 32,06 % | 34,20% | 1,92 % |
| Monoglycérides | 0,8 | 35,69 % | 33,18 % | 30,98% | - |

TABLEAU XII

REPARTITION DES ACIDES GRAS DANS LES GLYCERIDES.

b) Les excipients modernes .

Tous les excipients commercialisés, dont nous avons pu disposer, ont subi les analyses chromatographiques, mais il est évident qu'il n'était pas possible faute de temps, de les analyser tous complètement.

Nous avons simplement constaté qu'ils correspondaient à la définition du Codex concernant les glycérides semi-synthétiques en étudiant leur comportement chromatographique. Sur la figure 13 qui est une photographie d'une plaque de chromatographie épaisse prise en ultra-violet à $366\text{ m}\mu$, on peut comparer, facilement, la composition du Beurre de Cacao et d'un excipient moderne, le Witepsol W 35. Sur les figures suivantes on a réuni toute une série de ces excipients modernes classés par famille : il est facile de constater pour certains qu'ils sont formés des trois classes de glycérides en proportions différentes, d'autres uniquement de di et de monoglycérides, d'autres de tri et de diglycérides, d'autres enfin des glycérides et d'autres produits (Figures 14, 15, 16, 17, 18.).

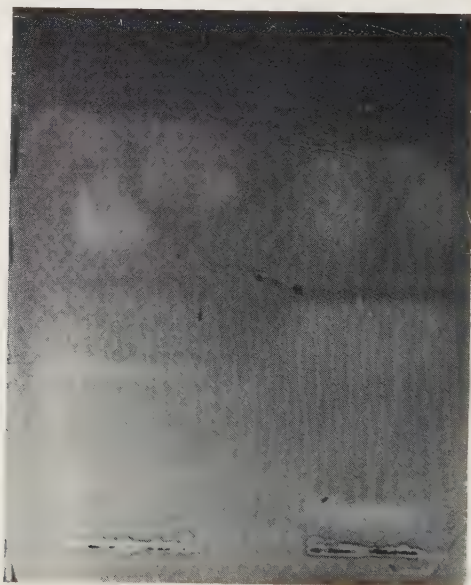


Figure 13 : Beurre de Cacao et Witepsol W 35.



Figure 14 A - Masses Witepsol : E85, E75, E76,
IMWITOR 960, MIGLYOL 812.



Figure 14 B - W 35, W 25, W 31, H 15, H 12, S 55.
(Masses Witepsol.)

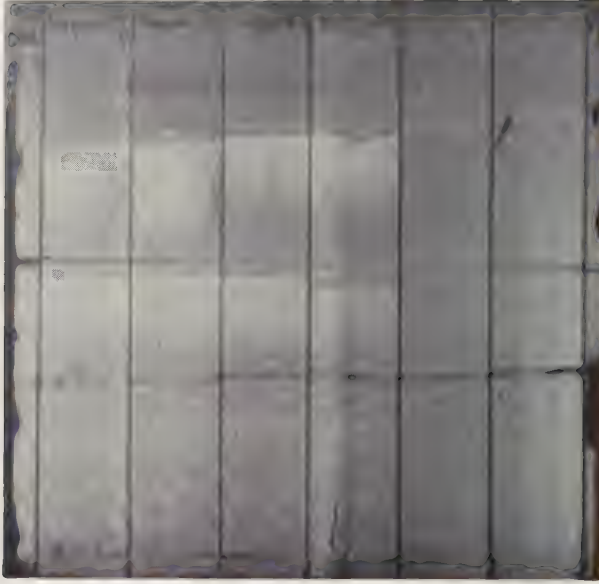


Figure 15 : SUPPOCIRES : A, B, AT, AS₂X.



Figure 16 : Cutina : MD, LE, OR, KD 16, AGS.



Figure 17 : MASSA ESTARINUM : A, AB, AS, B, DB.



Figure 18 : MASSA ESTARINUM : C, BC, D, BD, I.

Enfin dans le tableau XIII est indiquée la composition glycéridique chiffrée de deux de ces excipients modernes : le Witepsol W 31 et le Labrafac L, dont nous avons montré précédemment le comportement chromatographique.

| PRODUIT | WITEPSOL W 31 ⁺ | LABRAFAC L. ⁺⁺ |
|---|---|---|
| Aspect physique | Dur - P. F. 35 - 37° | Liquide |
| Triglycérides | 79,44 % | 97,60 % |
| Diglycérides | 19,04 % | 2,30 % |
| Monoglycérides | 1,15 % | - |
| % approximatif des principaux acides gras | $C_8 : 0,90 - C_{10} : 2,4$
$C_{12} : 43,1 - C_{14} : 18,1$
$C_{16} : 12,7 - C_{18} : 22,7$ | $C_8 : 87 \% - C_{10} : 12 \%$
$C_6 - C_{12} : \text{Traces.}$ |

TABLEAU XIII
COMPOSITION CHIFFREE DE DEUX EXCIPIENTS
MODERNES COMMERCIALISES

Les figures 19 et 20 représentent les chromatogrammes des acides gras totaux de ces deux excipients modernes (Witepsol⁺ W 31. (19)) (Labrafac ⁺⁺ (20)).

CONCLUSION .

Cette étude s'est révélée intéressante d'une part pour vérifier que les excipients correspondent bien aux normes du Codex 1965 et, d'autre part, la technique mise au point permet de contrôler la composition glycéridique de plusieurs lots d'un même excipient, car il est bien connu que la variation du pourcentage des différents glycérides modifie de façon sensible les propriétés physiques et chimiques de cet excipient.

+ Chemische Werke Witten

++ Gattefossé S. F. P. A.

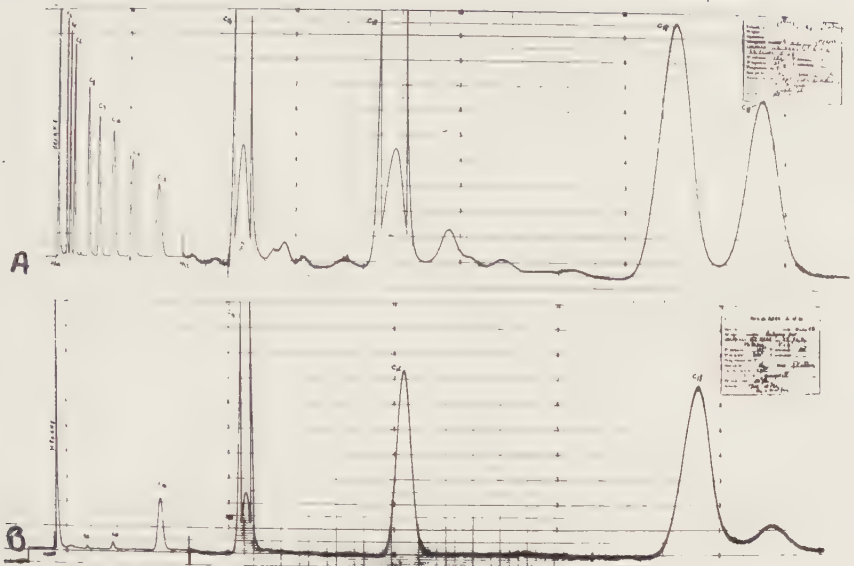


Figure 19 : A - Chromatogramme d'acides gras témoins directs de C₄ à C₁₈. (Quantité injectée : 2 microlitres).
 B - Chromatogramme des acides gras directs du W 31 à la même échelle. (Quantité injectée : 2 microlitres).

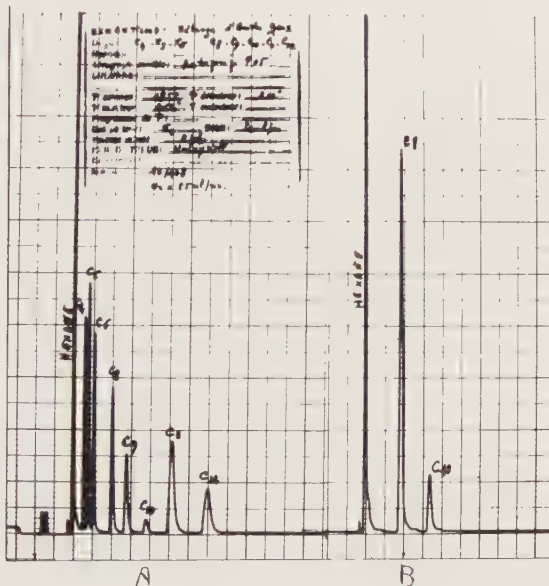


Figure 20 : A - Chromatogramme des acides gras témoins directs de C₄ à C₁₂. (Quantité injectée 2 microlitres).
 B - Chromatogramme des acides gras directs du Labrafac L. (Quantité injectée 2 microlitres).

CHAPITRE II

ANALYSE D'UN EXCIPIENT COMPLEXE
DE COMPOSITION CONNUE

Dans le chapitre précédent, nous avons donné en détail la méthode d'analyse des glycérides naturels ou synthétiques. Ces substances qui sont généralement à la base de nombreux excipients pour suppositoires et pommades se trouvent rarement seuls, mais plutôt complexés dans de nombreuses préparations commercialisées.

Aussi, dans les différents exemples de ce chapitre nous sommes nous attachés à reconstituer de toute pièce des mélanges arbitraires inspirés de ces nombreuses formules en vue de l'isolement et de la caractérisation de chacun des composants.

[illegible]

PREMIER EXEMPLE

L'exemple choisi pour cette étude est un excipient composé de :

| | |
|-----------------|------|
| - Eau | 20 % |
| - Glycérides | 65 % |
| - Hydrocarbures | 5 % |
| - Emulgateurs | 10 % |

Les glycérides sont représentés par le Beurre de Cacao, les hydrocarbures par de l'huile de vaseline, les émulseurs par un mélange à parties égales de myristate de polyéthylène-glycol 400 et de polyéthylène-glycol 600 pur. L'excipient est préparé de la façon suivante : dans une cuve chauffée électriquement, le beurre de cacao, l'huile de vaseline, le myristate de polyéthylène-glycol 400 et le polyéthylène-glycol 600 sont déposés successivement. A la fusion totale, le chauffage est arrêté, l'eau ajoutée et le mélange est agité jusqu'à complet refroidissement. L'émulsion ainsi obtenue est solide, jaune paille, à odeur caractéristique. Sur cet excipient ainsi préparé sera réalisée une série d'essais préliminaires avant l'analyse proprement dite.

1 - Essais préliminaires.

Ils sont de deux types : essais physiques et essais chromatographiques.

a) Essais physiques :

- Fusion de l'excipient :

Le mélange fondu et récemment agité est trouble ; il laisse apparaître au repos une couche inférieure blanchâtre.

- Mise en solution :

La solution dans le chloroforme en particulier est jaunâtre, surmontée d'une couche laiteuse, qui par agitation se décompose en fines gouttelettes se collant facilement aux parois du récipient.

Ces deux essais semblent indiquer la présence d'eau dans l'excipient : il s'agirait donc d'une émulsion dont il faut déterminer le pourcentage d'eau.

b) Essais chromatographiques.

Ces essais sont effectués sur l'excipient rendu anhydre (nous indiquons plus bas le mode opératoire) en solution dans le mélange chloroforme méthanol (2:1). Les chromatographies sont réalisées sur plaque de verre recouvertes d'une couche de gel de silice Merk HF 254 + 366 m μ (cf. chapitre précédent). Les systèmes de solvants utilisés sont ceux préconisés pour les glycérides, soit :

| Système (1) | Système (2) | Système (3) |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| Ether de Pétrole 70 | Ether de Pétrole 30 | Ether de Pétrole 0 |
| Ether éthylique 30 | Ether éthylique 70 | Ether éthylique 100 |

A côté du mélange sont déposés séparément chacun des composants pour servir de témoin. La lecture se fait par examen direct de la plaque en ultra-violets à 366 m μ .

Résultats :

L'aspect caractéristique des chromatogrammes avec ces systèmes de solvants sont d'un intérêt tout à fait particulier pour l'étude des excipients de ce type. Les résultats obtenus avec le solvant 1 sont représentés dans la figure 21 et il est facile de repérer les différentes substances avec les témoins correspondants : ainsi le spot au front du solvant représente les hydrocarbures : ce spot présente une vive fluorescence à la fois à 366 et à 254 m μ , ce qui permet de les différencier des autres substances dont la fluorescence à 254 m μ est faible.

Au-dessous de ce spot se trouvent les triglycérides facilement reconnaissables. C'est au niveau des diglycérides que l'image devient plus confuse mais très caractéristique : en effet une tache présentant une vive fluorescence violette recouvre toute la partie inférieure du chromatogramme, cette tache composée de plusieurs spots à bords ondulés et dont la forme rappelle celle d'une flamme est le signe de la présence d'esters gras de polyéthylène-glycols ou de glycols. Ce spot dont la surface est fonction de la proportion des produits dans le mélange, du poids moléculaire de l'acide gras estérifiant, recouvre plus ou moins les diglycérides et les monoglycérides et présente en outre un léger retard à la migration par rapport au témoin.

Avec les systèmes de solvants 2 et 3 (figure 22 a et 22 b) les diverses taches sont entraînées vers le front et d'autres apparaissent. Toutefois, après le passage du dernier solvant, le résidu fluorescent demeurant au point de départ indique la présence de polyéthylène-glycols purs : ces derniers, comme nous l'avons dit dans le chapitre précédent se distinguent alors des monoglycérides.

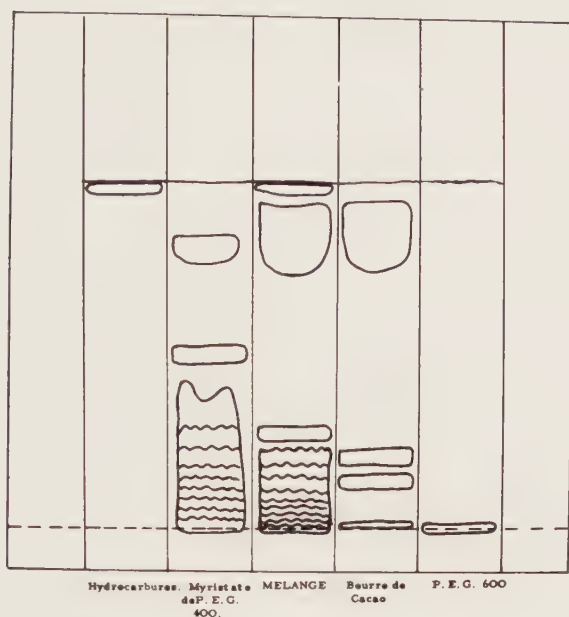


Figure 21 : Comportement chromatographique des substances témoins et de leur mélange avec le solvant : Ether de Pétrole- Ether Ethylique (70:30).

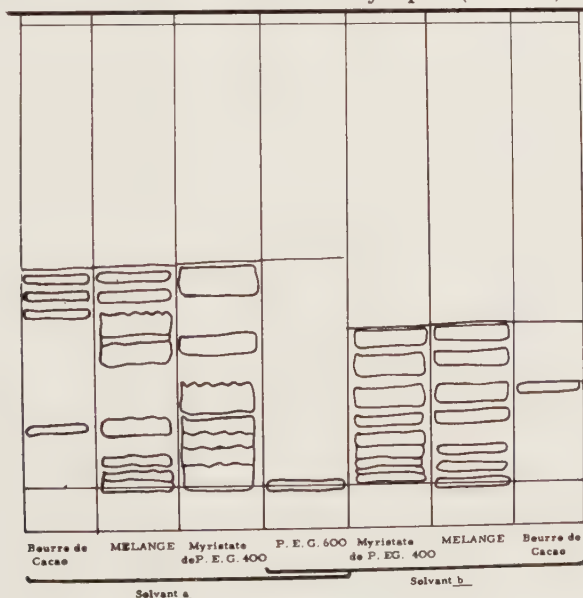


Figure 22 : Comportement chromatographique des substances témoins et de leur mélange avec les solvants :
 a) Ether de Pétrole- Ether Ethylique (30:70)
 b) Ether Ethylique (100).

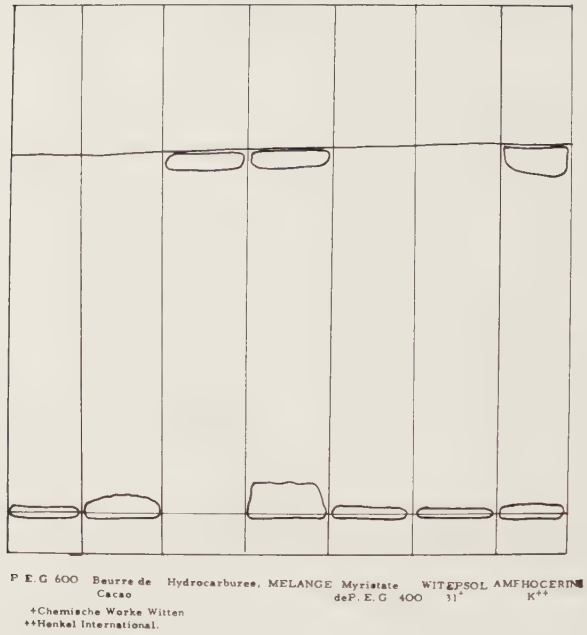


Figure 23 - Comportement chromatographique des substances témoins et de leur mélange avec le solvant :
Ether de Pétrôle (100).

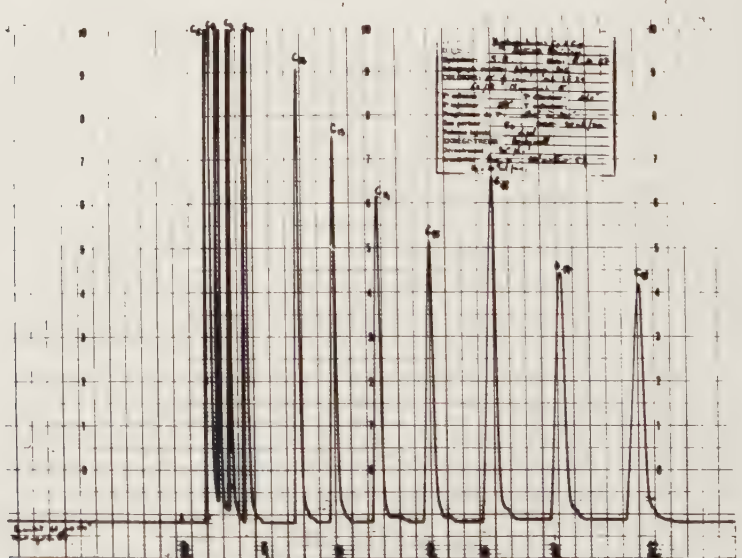


Figure 24 - Chromatogramme des hydrocarbures de C6 à C18 saturés linéaires.

D'après les renseignements obtenus avec ces essais préliminaires, l'excipient serait composé de :

- Eau
- Hydrocarbures
- Glycérides
- Esters de polyéthylène-glycol
- Polyéthylène-glycol.

2) Analyse :

a) Présence d'eau :

Si les essais préliminaires ont indiqué la présence d'eau, il est nécessaire d'en établir le pourcentage, puis de l'éliminer avant de poursuivre l'analyse. Ces deux opérations sont réalisées simultanément de la façon suivante : un poudrier taré contenant 2 grammes d'excipient est déposé pendant 24 heures dans une étuve à vide à 60°. Après ce temps, le poudrier est à nouveau pesé et la perte en eau évaluée.

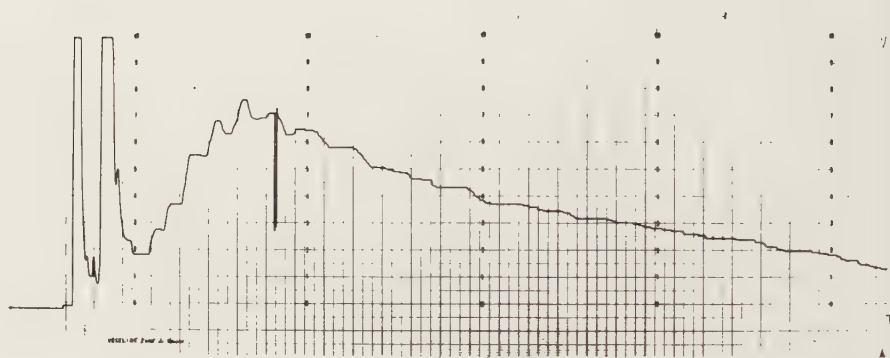
Sur ce produit ainsi débarrassé de son eau sera effectuée l'analyse proprement dite.

b) Présence d'Hydrocarbures :

La double fluorescence du spot de rf. # 0,95 observée avec le solvant I des glycérides laisse présumer la présence d'Hydrocarbures dans le mélange : la vérification est obtenue par chromatographie en couches minces sur les mêmes plaques de silice HF en utilisant comme solvant l'Ether de pétrole pur. Le mélange en solution est déposé sous forme d'un petit trait et seuls les hydrocarbures sont entraînés au front du solvant, les matières grasses pour leur part restent adsorbées au point de départ en une tâche, qui s'allonge plus ou moins selon leur origine (durée de la migration : 20 minutes) (Figure 23). Sur le cliché 23 ont été ajoutés, à titre d'exemple, deux excipients modernes commercialisés : l'un contenant des hydrocarbures (Amphocerine K), l'autre non (Witepsol 31).

Cette chromatographie analytique peut facilement s'adapter à la forme préparative sur les mêmes plaques que les glycérides pour permettre ainsi la récupération des hydrocarbures en vue de la détermination de leur proportion dans le mélange. En utilisant ensuite la chromatographie en phase gazeuse sur une colonne de SE 30 sur Chromosorb W 40-60 Mesh avec une température programmée manuellement de 130° à 200° (figure 24), il est possible d'identifier ces hydrocarbures et d'en calculer le pourcentage respectif excepté s'il

s'agit de vaseline ou d'huile de vaseline qui donnent un chromatogramme en palier, certes caractéristique, mais ininterprétable (figure 24 bis).



24 bis - Chromatogramme de vaseline pure.

c) Présence d'émulgateurs, type ester de polyéthylène-glycols ou de glycols et polyéthylène glycols.

Il est préférable, mais non indispensable en commençant cette partie de l'analyse, de travailler sur l'excipient débarrassé de ses hydrocarbures par chromatographie en couches épaisses préparatives.

La présence lors des essais préliminaires chromatographiques d'un spot en forme de flamme avec le solvant 1 et d'un résidu sur la ligne de départ après le passage du système 3 sont certes des indications précieuses pour l'orientation de la recherche, mais ne peuvent en aucun cas servir à l'identification directe après récupération, trop de substances pouvant, en effet, être masquées. Aussi, dans ce nouveau cas, la mise en œuvre d'un autre solvant est nécessaire : la chromatographie est toujours réalisée sur Gel de Silice HF 254 + 366 m μ mais avec, comme solvant, l'alcool éthylique à 80 % (alcool absolu - Eau distillée 80:20).

Nous avons pu constater au cours de nos expériences que l'épaisseur des plaques jouait un grand rôle dans la séparation des composants, car elle permettait, à notre sens, de réaliser deux chromatographies : la première se produisant lors du dépôt de l'échantillon dans le sens de l'épaisseur de la plaque, comme s'il s'agissait d'une véritable colonne : les substances se répartissent à différents niveaux ; la seconde s'effectuant dans le sens de la migration, le solvant de chromatographie entraînant alors les substances solubles dans ce solvant pratiquement déjà séparées par décantation lors du dépôt. La séparation des composants est d'autant meilleure que la couche est plus épaisse. La durée de cette chromatographie est plus longue que la précédente, de une à deux heures, suivant l'épaisseur de la plaque et la quantité de substance déposée.

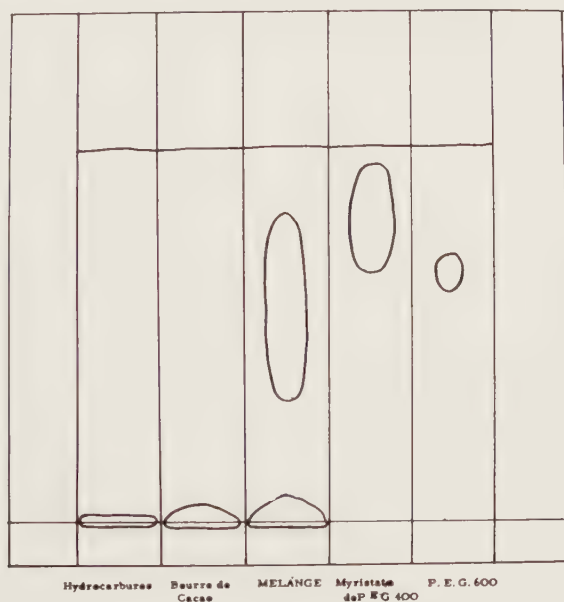


Figure 25 : Comportement chromatographique des substances témoins et de leur mélange avec le solvant : Alcool à 80 %.

Les résultats obtenus sont représentés dans la figure 25 : le Beurre de Cacao et les matières grasses en général restent adsorbées au point de départ sous forme d'une tache légèrement allongée. Les esters de polyéthylène-glycols ou de glycols et les polyéthylène-glycols : migrent plus ou moins selon l'acide gras estérifiant, l'alcool estérifié et surtout le poids moléculaire dans le cas des polyéthylène-glycols. Comme dans le cas des solvants des

glycérides ces substances sont légèrement retardées si elles sont mélangées avec d'autres non entraînables par le solvant. Et ainsi dans le spot global obtenu il est difficile d'étiqueter avec certitude l'un des deux émulseurs. Pour identifier avec précision ces substances, il faut les isoler pour les étudier en transformant cette technique de chromatographie analytique en préparative.

La séparation est encore réalisée sur plaques de Silice HF 254 + 366 m μ de 1 à 2 mm d'épaisseur. La fraction hydrophile est récupérée par simple grattage en ultra-violets. L'élution au Soxhlet est réalisée d'abord par de l'éther éthylique pur pour obtenir les esters gras de polyéthylène-glycols et de glycols, puis par du chloroforme pour les polyéthylène-glycols. Les émulseurs récupérés ensemble sont donc isolés et leur poids respectif est déterminé.

Leur identification se poursuit de la manière suivante : les esters de polyéthylène-glycols ou de glycols sont hydrolysés : les acides gras sont ensuite extraits et analysés directement en chromatographie en phase gazeuse sur une colonne de D.E.G.S. + PO₄H₃ 2% sur Firebrick 80/100 Mesh. Les polyéthylène-glycols provenant, soit de la fraction élue au chloroforme, soit de la solution aqueuse de l'hydrolyse des esters sont à nouveau analysés en chromatographie en couches minces sur le même support avec de l'alcool à 80 % comme solvant pour établir leur poids moléculaire par comparaison avec des témoins. Un exemple de cette séparation est donné dans la figure 26 et 26 bis (photographie en U.V.).

On aurait pu utiliser aussi pour la caractérisation des polyéthylène-glycols la détermination de leur indice d'hydroxyle selon la technique de Verley et Bossing, modifiée par Bleyberg et Lettner⁺, mais à moins d'utiliser des produits très purs cette méthode est trop sensible à la variation de ses différents facteurs et peut amener alors de nombreuses erreurs comme nous avons pu le constater dans nos expériences.

Les glycols pour leur part dans les mêmes conditions migrent tous plus haut que les polyéthylène-glycols (rf. $\neq$ 0,80).

Ils se différencient aussi des polyéthylène-glycols au moyen de spot-tests avec les réactifs suivants :

+ Communiqué aimablement par la Société Hoescht.

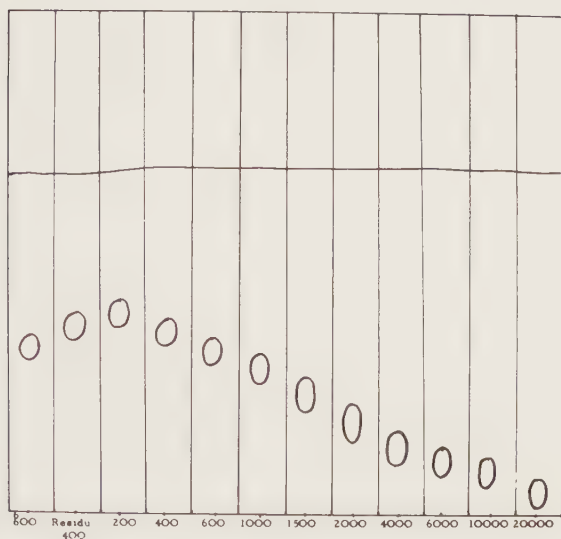


Figure 26 - Séparation des différents P.E.G. avec le solvant
Alcool à 80 %

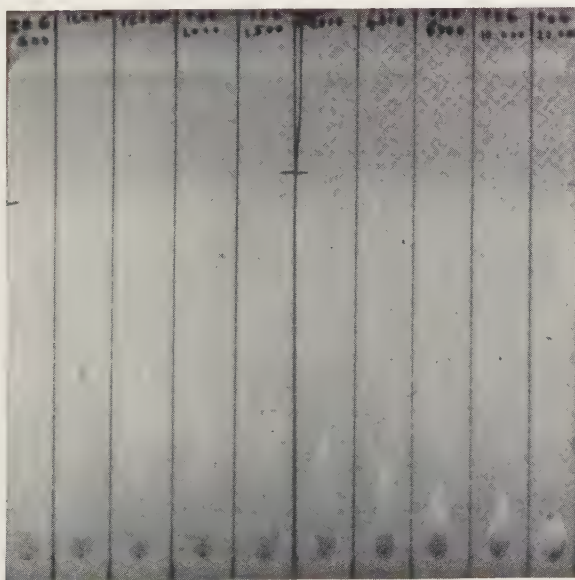


Figure 26 bis : cf figure 26 (photographie en U.V.).

| REACTIFS | POLYETHYLENE
GLYCOLS | GLYCOLS
PROPYLENE-GLYCOL
ETHYLENE-GLYCOL |
|--------------------------------|-------------------------|--|
| Dragendorff | + (rose) | - |
| Nitrate d'Argent
Ammoniacal | - | + |
| Périodate de Benzidine | - | + Ethylène-glycol
- Propylène glycol |

cf. COTTE et GUILLOT (41).

De plus, l'identification sélective des glycols est réalisée en chromatographie en phase gazeuse sur colonne de Carbowax 600 sur Fluoropak à 135° (Figure 27+).

d) Présence de Glycérides :

De l'excipient original débarrassé successivement de son eau, de ses hydrocarbures et de ses émulseurs, ne subsiste que la partie grasse constituée par des glycérides qui seront enfin étudiés selon le protocole déjà décrit.

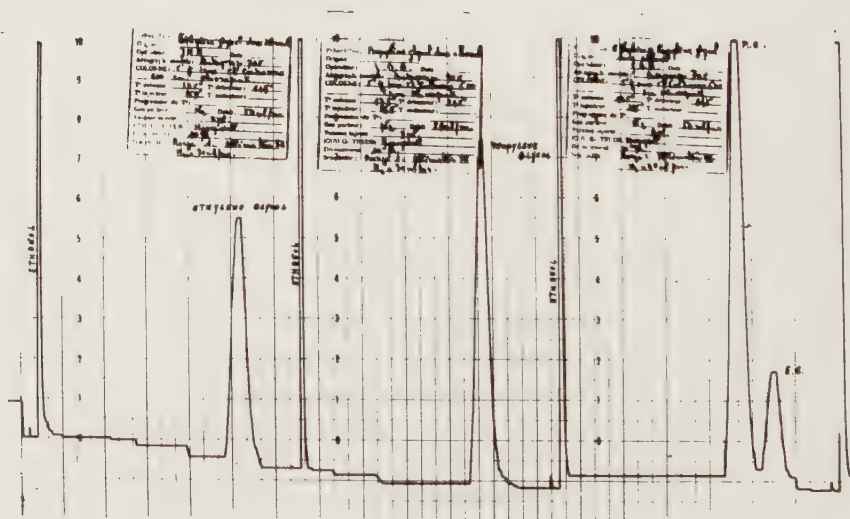


Figure 27 - Chromatogramme de Ethylène-Glycol, Propylène Glycol et leur mélange.

+ Appareil Aerograph Autoprep 705 (règle en analytique).

3 - Etude critique :

Cette technique, simple, de réalisation aisée, peut s'adapter à l'analyse de nombreux excipients complexes de ce type, c'est à dire aux excipients émulsionnés en général des types Huile/Eau ou Eau/Huile. Toutefois, de nombreux points sont à préciser et doivent être examinés soigneusement avant toute analyse.

Premier point : Aspect physique de l'excipient :

Il est certain que dans le cas étudié il n'était pas possible de déterminer le type de l'émulsion par les techniques classiques en raison de sa dureté : seul le pourcentage des différents éléments et le genre d'émulgateur pouvaient donner cette réponse. Par contre, dans le cas d'un excipient pâteux la détermination du type de l'émulsion par la technique classique de la mise en solution dans l'eau ou dans l'huile est réalisable et peut donner une bonne indication pour la suite de l'analyse.

Deuxième point :

Il faut savoir que les Tweens et les Spans très souvent utilisés ont un comportement voisin respectivement des polyéthylène-glycols et des esters de polyéthylène-glycols. Ainsi, au cours des essais chromatographiques, on voit que les Spans donnent une tache en forme de flamme voisine de celle obtenue avec les esters de polyéthylène-glycols, alors que les Tweens, comme les polyéthylène-glycols, ne sont pas entraînés par les trois systèmes de solvants utilisés pour les glycérides. De plus, Tweens et Spans sont aussi entraînés par l'alcool à 80 %.

Leur identification est réalisée de la façon suivante après récupération des fractions en chromatographie sur couches épaisses préparatives avec l'alcool à 80 % : l'éluat par l'éther éthylique renferme les Spans qui seront reconnus après saponification par le biais de l'identification de leur principal acide gras estérifiant effectuée en chromatographie gazeuse (Figure 28).

Les anhydrides du Sorbitol sont, pour leur part, mis en évidence par spot-test selon le schéma suivant :

| REACTIF | REACTION | COULEUR DU SPOT |
|-----------------------------|----------|---------------------------------|
| Draggendorf | + | Jaune d'or sur fond jaune clair |
| Nitrate d'Argent ammoniacal | + | incolore sur fond brun |
| Périodate de Benzidine | + | incolore sur fond bleu |

En cas de mélange Span-Ester de polyéthylène-glycols ou de glycols, l'identification des acides gras se fait simultanément après hydrolyse puis les glycols sont identifiés en chromatographie en phase gazeuse, polyéthylène-glycols et Sorbitol par spots-tests.

Les Tweens élués par le chloroforme sont aussi identifiés par le biais de leur principal acide gras après saponification (Figure 28). Ils se différencient ainsi d'ailleurs des polyéthylène-glycols qui eux, ne sont pas saponifiables.

De plus, en cas de mélange Tween-Polyéthylène-glycol ou Span-ester de polyéthylène-glycol, la présence des anhydrides du Sorbitol gêne considérablement par interférence chromatographique l'identification précise des polyéthylène-glycols, : seule leur présence par spot-tests peut être indiquée.

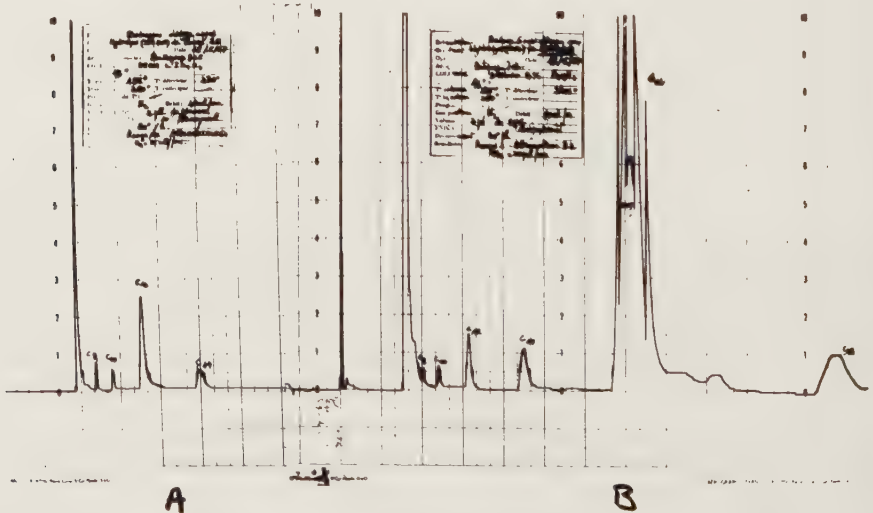


Figure 28 : A) Chromatogramme des Acides gras de Tween 20
B) Chromatogramme des Acides gras de Span 40

Cependant, une légère modification de cette technique de base doit être mise en jeu, si les spans 40 ou 60 sont présents dans le mélange : en effet, ces deux Spans ne sont pratiquement pas entraînés par l'alcool à 80 %. Donc, si au cours des essais chromatographiques avec le solvant 1 des glycérides (Ether de pétrole 70 - Ether éthylique 30) un spot en forme de flamme est décelé sans que l'on puisse apercevoir de spot lors de la chromatographie avec l'alcool à 80 %, il faut penser à l'un de ces deux spans. Dans ces conditions, il suffit de traiter l'excipient débarrassé de son eau et de ses hydrocarbures par de l'alcool à 80 % (une partie d'excipient pour cinq parties d'alcool) à une température voisine de 40°. Seuls les Spans se dissolvent et après centrifugation à 4000-5000 tours/minute du liquide chaud, on obtient une solution alcoolique pure exempte totalement de glycérides (quatre extractions au moins doivent être réalisées pour arriver à ce résultat). Les Spans seront alors identifiés après évaporation de l'alcool selon la méthode déjà décrite.

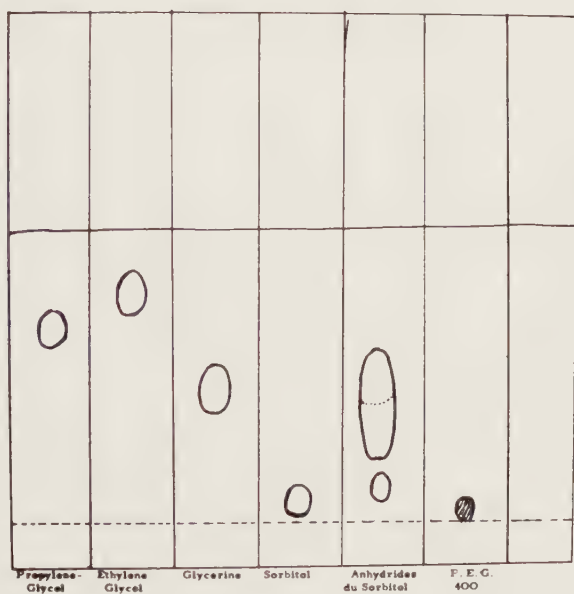


Figure 29 : COMPORTEMENT CHROMATOGRAPHIQUE
DE DIFFERENTS ALCOOLS ET GLYCOLS AVEC LE SOLVANT :
Butanol-Eau (9:1). Révélation aux U.V. et par le périodate de
Benzidine (P.E.G. non révélé).

Remarque importante.

Dans le but d'identifier et de séparer les polyéthylène-glycols, les glycols et les anhydrides du Sorbitol, nous avons essayé une technique de chromatographie en couches minces relevée dans la littérature (154). Si les résultats sont décevants par certains côtés (Figure 29), ils nous ont permis par contre de constater dans le résidu d'hydrolyse des spans l'absence de Sorbitol et la présence de deux (au moins) spots correspondants aux anhydrides du Sorbitol, constatations effectuées également par certains auteurs, très récemment (34) ce qui explique nos difficultés à les caractériser et à les séparer des autres produits.

Troisième point :

Un autre critère important doit être aussi examiné avant l'analyse ; il s'agit de la solubilité propre de l'excipient de base, du glycéride à proprement parler, qui peut aussi modifier l'aspect des chromatogrammes et fausser les réponses. Ainsi, par exemple, le Beurre de Cacao est pratiquement insoluble dans l'alcool absolu froid et à plus forte raison dans un alcool dilué. Par contre, certains glycérides naturels ou synthétiques polyoxyéthylénés ou non sont très solubles dans l'alcool absolu et même dans l'alcool à 95°, ce qui a pour conséquence de modifier complètement l'aspect du chromatogramme avec l'alcool à 80 % : toute la substance est entraînée par cet alcool. Dans ce cas, il suffit de traiter avant l'étude chromatographique l'excipient par l'alcool à 80 % à 40°. La solution trouble obtenue est alors centrifugée à grande vitesse (4000 - 5000 tours/minute) pour détruire l'émulsion formée. Dans la solution alcoolique limpide obtenue se trouvent les émulseurs, qui seront étudiés et identifiés, comme il a été déjà indiqué.

AUTRES EXEMPLES

Dans les pages précédentes nous avons élaboré un canevas destiné à l'analyse d'excipients d'un type déterminé. A présent nous allons ajouter d'autres substances à notre excipient de base et à l'aide de la technique décrite tenter d'isoler et d'identifier ces différents produits. Ainsi, la méthode sera adaptée, complétée, ce qui permettra enfin d'établir un tableau d'analyse pour excipients complexes de composition inconnue.

A - Addition d'alcools gras :

Comme il a été déjà signalé au cours de l'étude générale des excipients, les alcools gras, myristilique, cétylique, stéarylique, cétostéarylique (cire de "lanette"), en particulier, sont souvent ajoutés aux excipients comme facteur de consistance dans les pommades, les suppositoires, les sticks etc... Aussi leur recherche est-elle intéressante.

Soit un mélange :

| | |
|------------------------|-------|
| glycérides | 60 % |
| alcools gras | 10 % |
| émulgateur non ionique | 10 % |
| eau | 20 %. |

Les glycérides sont représentés par le Beurre de cacao, les alcools gras par l'alcool myristilique, l'émulgateur non ionique est du Pelargonate de polyéthylène-glycol 300.

Suivant le plan d'étude déjà décrit, nous allons d'abord effectuer :

a) des essais préliminaires :

- la présence d'eau est décelée par la fusion et la mise en solution.
- les essais chromatographiques sur l'excipient deshydraté ont été réalisés avec tous les solvants préconisés : les résultats obtenus sont les suivants :

Avec l'éther de pétrole rien n'est entraîné (figure 30 a).

Avec l'alcool à 80 % un spot important est observé au $R_f \neq 0,80$ qui semble composé si l'on se réfère aux témoins par

les alcools gras et les émulateurs. Il n'est pas possible de les différencier (figure 30 b) et il faut toujours noter un léger retard des substances combinées par rapport aux témoins.

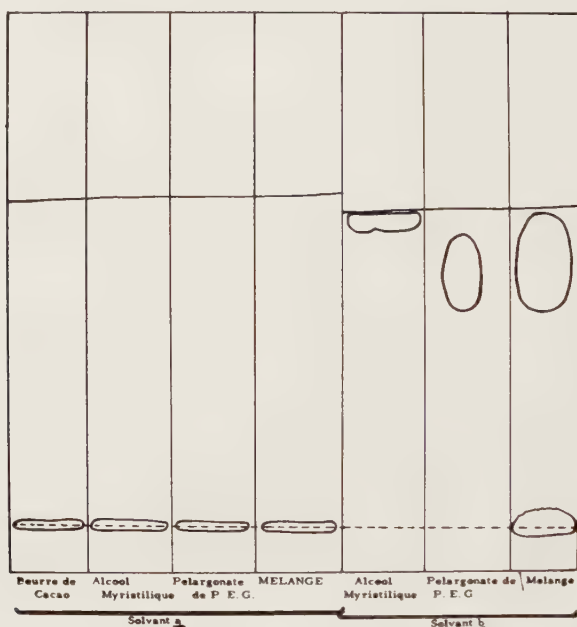


Figure 30 : Comportement chromatographique des substances témoins et de leur mélange avec les solvants :
 a) Ether de Pétrole (100)
 b) Alcool à 80 %

Avec le système de solvant 1 des glycérides (Ether de pétrole 70 - Ether éthylique 30), au niveau des diglycérides où l'image était déjà confuse (Figure 31), on peut quand même observer en chapeau des diglycérides un spot très fluorescent à 366 m μ et surtout à 254 m μ : une comparaison avec les témoins montre qu'il s'agit de l'alcool gras (et même de tous les alcools gras qui ont avec ce solvant le même rf.). La " flamme " de l'ester de polyéthylène-glycol est bien visible au-dessous mais ce fait déjà signalé précédemment n'est pas absolu, car suivant le poids moléculaire de l'acide gras estérifiant, le polyéthylène-glycol et la concentration de l'émulateur dans le mélange, la flamme peut atteindre le spot des alcools et même le recouvrir partiellement. Un seul critère a une valeur diagnostique certaine : la fluorescence du spot des alcools gras à 254 m μ , juste placé au-dessus des diglycérides, comme le montre la figure 31. Toutefois cet indice n'est pas suffisant et il faut recourir à un complément de technique pour identifier ces alcools.

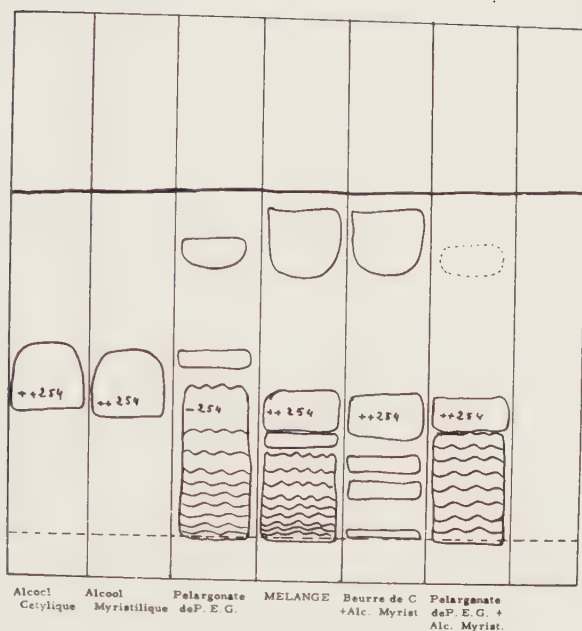


Figure 31 : Comportement chromatographique des substances témoins et de leur mélange avec le solvant :
Ether de Pétrole - Ether Ethylique (70:30)

b) Analyse proprement dite.

- Recherche et identification des alcools gras.

L'excipient déshydraté est traité comme il a déjà été indiqué pour les Spans et les excipients alcoolosolubles par de l'alcool à 80 % à une température d'environ 40° - 50° (une partie d'excipient pour cinq parties d'alcool). Cette extraction est suivie d'une centrifugation rapide (4000-5000 tours/minute), puis le surnageant est décanté et l'extraction à chaud est recommencée quatre fois. Le surnageant comprend les alcools gras et les émulseurs non ioniques le résidu est formé des glycérides. On peut vérifier la fin de l'extraction et la pureté des deux parties obtenues en effectuant des chromatographies en couches minces avec les solvants : alcool à 80 % d'une part, éther de pétrole-éther éthylique (70:30) d'autre part (figure 32 a-b).

Cette vérification achevée, la solution alcoolique contenant alcool gras et émulseur est évaporée à sec, le résidu repris par de l'alcool à 95 % est alors hydrolysé selon la technique classique (20 ml de KOH N/10 pour 0,100 g de produit). La solution d'hydrolyse est à nouveau passée en chromatographie en couches



Figure 32 : Chromatographies de l'extraction et du résidu de l'extraction par l'alcool à 80 % :

- a) avec le solvant =: alcool à 80 %
- b) avec le solvant : ether de pétrole-ether éthylique (70:30)
- c) même solvant que B mais après hydrolyse de l'extractum.

minces sur Silice HF avec le solvant 1 des glycérides (Ether de pétrole-Ether éthylique 70:30) pour vérifier de façon certaine la présence des alcools gras, qui, seuls, sont entraînés par ce solvant et donnent leur spot caractéristique (Figure 32 c). Pour les récupérer, il suffit soit de déposer la totalité de cette solution sur une plaque de chromatographie préparative avec le même solvant et de les isoler - après la migration par grattage. soit de traiter la solution d'hydrolyse préalablement diluée par un égal volume d'eau, par 50 ml en plusieurs fois de benzène pur. La solution benzenique d'alcool gras est concentrée, séchée sur sulfate de soude anhydre, puis évaporée à sec et les alcools gras récupérés sont analysés par chromatographie en phase gazeuse sur colonne de SE 30 à 210° (Figure 33)⁺. L'identification du produit est obtenue par comparaison avec un diagramme témoin réalisé dans les mêmes conditions.

Remarque : Pour l'extraction complète de la fraction alcool gras-émulgateur, on aurait pu, facilement, semble-t-il, utiliser la chromatographie préparative avec l'alcool à 80 % comme solvant. Mais l'expérience nous a montré que dans ces cas précis l'extraction manuelle donnait de meilleurs résultats, d'autant que certains alcools gras de haut poids moléculaire (alcool stéarique par exemple) n'étaient pas parfaitement élués par l'alcool à 80 % surtout s'ils étaient mélangés à d'autres excipients non entraînés.

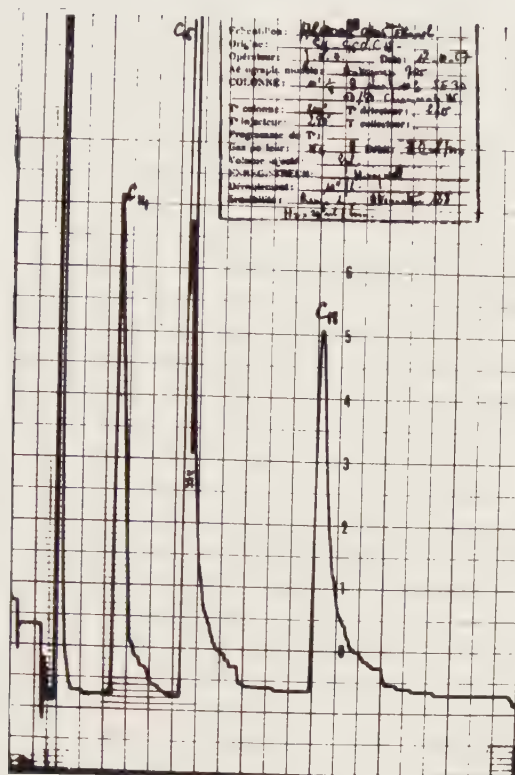


Figure 33 - Chromatogramme des alcools gras directs de C 14 à C 18 en solution dans l'éthanol.

- Recherche et identification des autres composants :

La solution hydroalcoolique privée des alcools gras est ensuite débarrassée de ses acides gras après acidification et traitement par l'éther de pétrole. Sur le résidu d'évaporation de la solution hydroalcoolique, il est alors facile de caractériser le polyéthylène-glycol par les méthodes déjà décrites.

Quant au résidu glycéridique de la centrifugation, il est étudié, aussi, selon les méthodes déjà prescrites.

B - ADDITION d'EMULGATEURS IONIQUES.

Les plus couramment utilisés sont le Lauryl-Sulfate de Sodium et le Cétyle-Sulfate de Sodium. Ces substances très hydrosolubles ne sont pas entraînées en chromatographie par les solvants des matières grasses (Ether de pétrole, Ether éthylique etc...) mais, par contre, avec l'alcool à 80 %, elles migrent jusqu'au front du solvant (figure 34 a).

Ainsi l'analyse d'un mélange composé de :

| | |
|--|--------|
| - Vaseline | 25,0 % |
| - Pelargonate de polyéthylène-glycol | 12,5 % |
| - Lauryl-Sulfate de Sodium | 12,5 % |
| - Eau | 50,0 % |

sera faite de la façon suivante :

1) Essais préliminaires :

- La fusion de l'excipient et sa mise en solution laissent, comme il était prévisible, entrevoir la présence d'eau. Cependant, au sein de la masse déshydratée ramenée à la température ambiante, mais encore liquide, on distingue des trainées blanchâtres.

- Les chromatographies en couches minces effectuées selon le protocole connu ne donnent aucun renseignement concernant la présence des émulseurs ioniques malgré une bonne migration du produit pur (Figure 34 b). Il n'est donc pas possible, à ce stade, de tirer une conclusion valable sur le seul aspect de l'excipient fondu.

2) Analyse :

- Recherche et identification de l'émulseur ionique.

L'excipient déshydraté va être traité par du chloroforme pur (une partie d'excipient pour cinq de chloroforme) : les matières grasses et assimilées sont alors totalement solubilisées et le Lauryl Sulfate de Sodium reste en suspension : il suffit de filtrer sur papier la solution et après lavage du filtre par du chloroforme et séchage, de recueillir ce Lauryl-Sulfate et de l'identifier par les méthodes indiquées à la Pharmacopée Américaine (U.S.P. XVI) : le produit mis en solution dans l'eau est hydrolysé en présence d'acide chlorhydrique concentré ; puis dans la liqueur d'hydrolyse les ions sulfate et sodium sont caractérisés. L'alcool pour sa part est extrait par de l'éther éthylique ou du benzène et analysé en chromatographie en phase gazeuse suivant la technique précédemment décrite.

- Recherche et identification des autres composants :

La solution chloroformique est évaporée et le résidu analysé selon le protocole déjà décrit : la vaseline est isolée par chromatographie avec l'éther de pétrole pur. L'ester de polyéthylène-glycol, après avoir constaté qu'il n'était pas accompagné de glycérides par chromatographie en couches minces avec l'alcool à 80 %, est étudié comme précédemment.

C - ADDITION de PRODUITS PARTICULIERS COMME la L'ANOLEINE, la CIRE d'ABEILLE, le BLANC de BALEINE.

Le problème est, ici, très complexe. En effet, tous ces produits ont déjà, par eux-mêmes, des compositions très diverses. Ils contiennent, pratiquement, toutes les classes de produits que

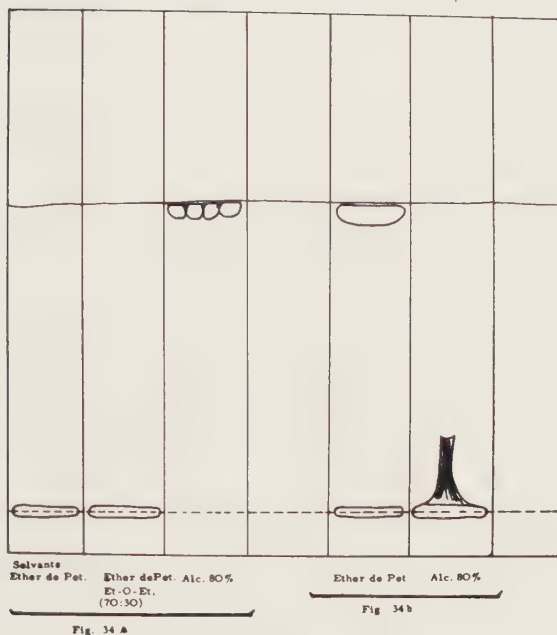


Figure 34 : a) Chromatographie du Lauryl-Sulfate de Sodium avec différents solvants.

b) Chromatographie de mélange L-S-de Na + Vaseline + Ester de P.E.G.

nous avons déjà séparés jusqu'à maintenant, exception faite des émulseurs ioniques et non ioniques. Aussi, des essais chromatographiques effectués avec ces excipients ont donné des résultats non seulement délicats à interpréter, mais qui interfèrent avec tous les exemples étudiés. Les figures 35, 36 et 37 donnent une idée précise de ce comportement, correspondant d'ailleurs à la composition de ces produits. Il est donc difficile, sinon impossible d'affirmer leur présence dans un excipient surtout s'ils sont en très faible proportion (1 à 3 % dans certains cas). Nous allons seulement mentionner quelques critères qui pourraient, éventuellement, servir à indiquer la présence de l'un d'entre eux.

La lanoleïne par exemple, donne, avec l'alcool à 80% (Figure 36), un spot (rf. $\neq$ 0,96) qui, élué, donne la réaction de Libermann* mais avec une intensité faible (1+). Avec le solvant éther de pétrole-éther éthylique (70:30), (Figure 37), le spot supérieur marqué (1) et le suivant marqué (2) donnent tous deux la

* Cette réaction est réalisée directement sur l'adsorbant gratté mis en solution dans du chloroforme

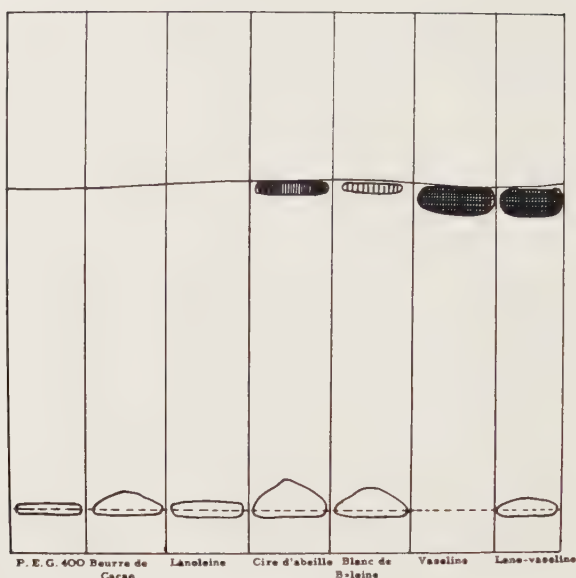


Figure 35 : Chromatographie de divers excipients avec le solvant : Ether de Pétrole.

réaction de Libermann : le (1) très forte (3+), le (2) moyenne (2+). Cette réaction permet de déceler la lanoléine assez facilement dans un excipient. Certes dans un mélange lanovaseline (Figures 35, 36, 37), le problème est simple, il se complique dès l'instant où il y a aussi des glycérides et d'autres produits. Certains auteurs ont approché le problème (53).

De même la cire d'abeille peut se déceler facilement grâce à l'étude par chromatographie gazeuse de ses hydrocarbures récupérés après chromatographie préparative avec l'éther de pétrole, à condition, cependant, que d'autres hydrocarbures n'aient pas été ajoutés, ce qui, évidemment, fausse le résultat (cela se produit d'ailleurs dans certains excipients commercialisés).

Pour le blanc de baleine enfin, le problème reste aussi entier : seule la présence en quantité relativement importante d'acide palmitique et d'alcool cétylique peuvent faire penser à sa présence mais, encore une fois, ce n'est qu'une présomption, comme pour la cire d'abeille.

Il faut donc le répéter, dans un mélange complexe, l'identification précise de ces trois produits est très difficile et ne semble pas, du moins actuellement, avoir de solution pratique.

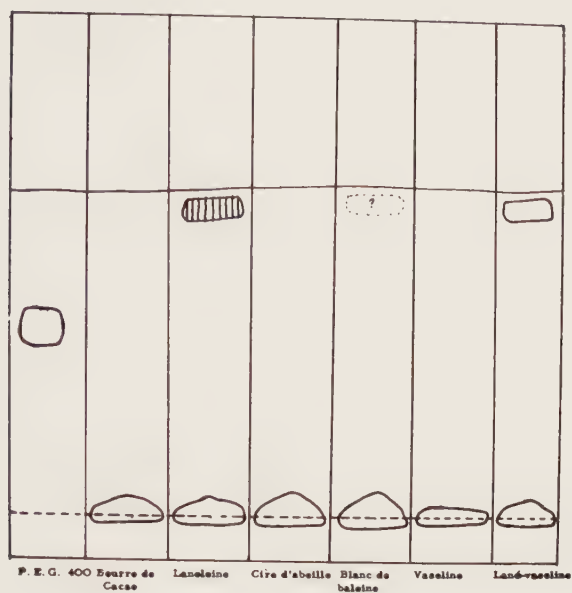


Figure 36 : Chromatographie de divers excipients avec le solvant : Alcool à 80 %.

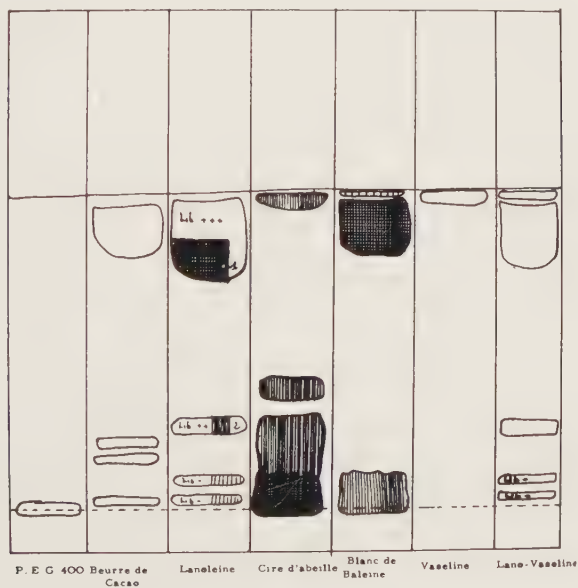


Figure 37 : Chromatographie de divers excipients avec le solvant : Ether de Pétrole- Ether Ethylique (70:30).



C H A P I T R E I I I

ANALYSE D'UN EXCIPIENT DE COMPOSITION INCONNUE

Dans les précédents chapitres, nous avons donné successivement plusieurs techniques d'analyse se rapportant à des mélanges d'excipients, dont la formule était connue. En classant ces différentes techniques, il est maintenant possible d'établir un canevas général d'analyse d'excipients complexes de composition inconnue.

Ce canevas sera établi pour plus de commodité, sous forme de tableaux qui doivent permettre une orientation des recherches.

A - ESSAIS PRELIMINAIRES.

Ils sont résumés dans la succession de tableaux et figures suivants : le tableau XIV montre l'ordre des différents essais à effectuer :

I et II : d'abord des essais de fusion et de mise en solution pour déterminer la présence d'eau. Si ces tests sont positifs, il faut éliminer cette eau pour effectuer les autres essais qui sont, dans l'ordre :

III : une mise en solution dans le chloroforme pour déceler les émulseurs ioniques,

IV : une autre mise en solution dans l'alcool absolu : si l'excipient est soluble (pratiquement aux $\frac{2}{3}$), il faut alors le traiter (une partie pour cinq) par de l'alcool à 80 %. Cette solution et le résidu sont conservés et seront étudiés par chromatographie. Si l'excipient

est insoluble, on passe directement aux essais chromatographiques.

V : Essais chromatographiques :

Les figures 38, 39, 40 représentent les différentes réponses chromatographiques que l'on peut obtenir avec les produits purs ou en mélange après passage des divers solvants utilisés. On opère soit sur une seule plaque que l'on plongera successivement dans les solvants, soit, pour plus de précision et de commodité, sur plusieurs plaques 5 x 20 cm recouvertes toujours d'une couche de Silicagel HF 254 + 366m μ de 0,35 mm d'épaisseur.

Les solvants utilisés sont :

Solvant I : Ether de Pétrole pur : Il entraîne au front les hydrocarbures (réponse 1) et laisse sur la ligne de départ les matières grasses (réponse 3).

Solvant II : Alcool à 80 % : - Les émulseurs non-ioniques et les alcools gras sont seuls entraînés plus ou moins (pas de différenciation possible entre eux) (réponse 2).
- Les matières grasses hydrophobes restent adsorbées au point de départ (réponse 3).

Solvant III : Ether de Pétrole 70 : Les polyéthylène-glycols et les
Ether Ethylique 30 tweens ne sont pas entraînés (réponse 1) - Les émulsionnants non ioniques (spans, esters de polyéthylène-glycols) donnent un spot très allongé à bords ondulés (réponse 2) Les hydrocarbures sont entraînés avec le front du solvant (réponse 3) - Les glycérides, la lanoléine sont résolus (réponses 6 et 5) - Les alcools gras forment un spot bi-fluorescent au-dessus des diglycérides (réponses 8 et 9).

Ce solvant permet de confirmer les réponses déjà obtenues avec les deux précédents solvants. Dans certains cas (en particulier si on soupçonne la présence de Tween ou de polyéthylène-glycol), il faut faire migrer sur la même plaque qui a servi au solvant III, successivement les solvants :

IV : Ether de Pétrole-Ether Ethylique (30:70)

et V : Ether Ethylique (100) : Après ce solvant les substances adsorbées au point de départ sont des Polyéthylène-glycols ou des tweens ou un mélange des deux.

TABLEAU XIV - ESSAIS PRELIMINAIRES

| ESSAI | SUBSTANCE DETECTEE |
|---|---|
| I - FUSION | |
| II - MISE EN SOLUTION | EAU |
| III - RESIDU DESHYDRATE DE II
MIS EN SOLUTION DANS CHCl_3 | <div> <div>1 résidu insoluble</div> <div>Pas de résidu</div> <div>IV</div> </div> |
| IV - ESSAI DE SOLUBILITE DANS
L'ALCOOL ABSOLU | <div> <div>Soluble : traitement par alcool à 80 %</div> <div>Insoluble</div> <div>V</div> <div>Insoluble</div> <div>IV</div> </div> |
| V - ESSAIS CHROMATOGRAPHIQUES | |
| a) Solvant I : ETHER DE PETROLE (100) | HYDROCARBURES |
| b) Solvant II : ALCOOL A 80 % | EMULGATEURS NON IONIQUES
ET ALCOOL GRAS |
| c) Solvant III : ETHER DE PETROLE-ETHER ETHYLIQUE (70:30) | GLYCERIDES (Triglycérides) |
| d) Eventuellement : IV : ETHER DE PETROLE-ETHER ETHYLIQUE
(30:70) | GLYCERIDES (Diglycérides) |
| V : ETHER ETHYLIQUE (100) | P.E.G. TWEEN et
GLYCERIDES (Monoglycérides) |

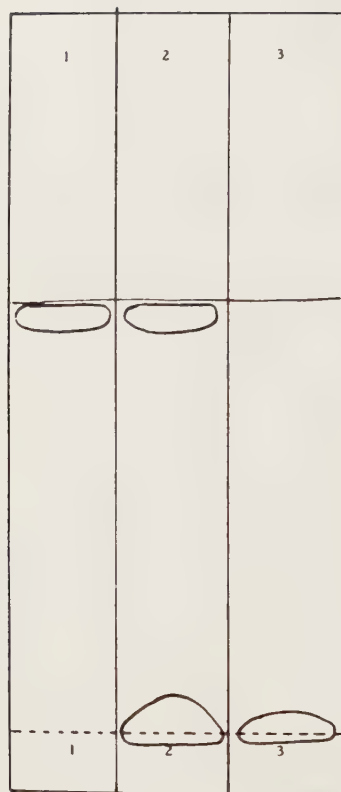


Figure 38

Types de réponses obtenues
avec le solvant I Ether de
Pétrole (100).

Réponse 1 : Uniquement des
Hydrocarbures.

Réponse 2 : Matières grasses +
hydrocarbures

Réponse 3 : Matières grasses.

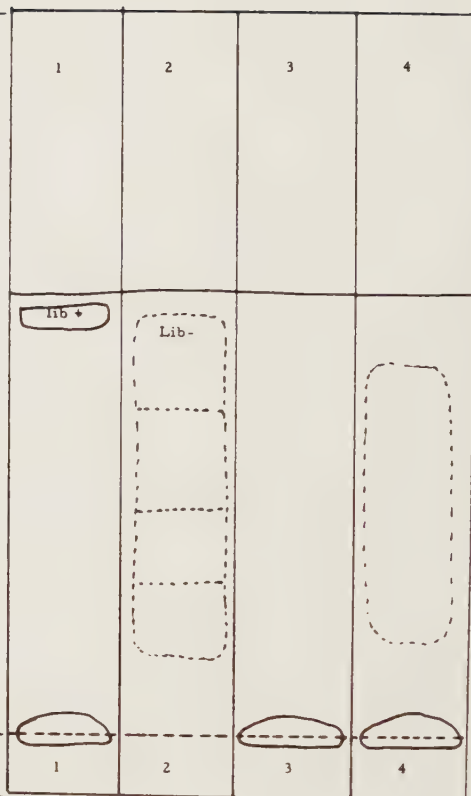


Figure 39

Types de réponses obtenues
avec le solvant II : Alcool
à 80 %.

Réponse 1 : Spot Lib + Lanoléine

Réponse 2 : Spot Lib -

a) Emulgateurs non ioniques

b) Alcools gras

Réponse 3 : Matières grasses
hydrophobes

Réponse 4 : Complexe forme de
(3) et (2).

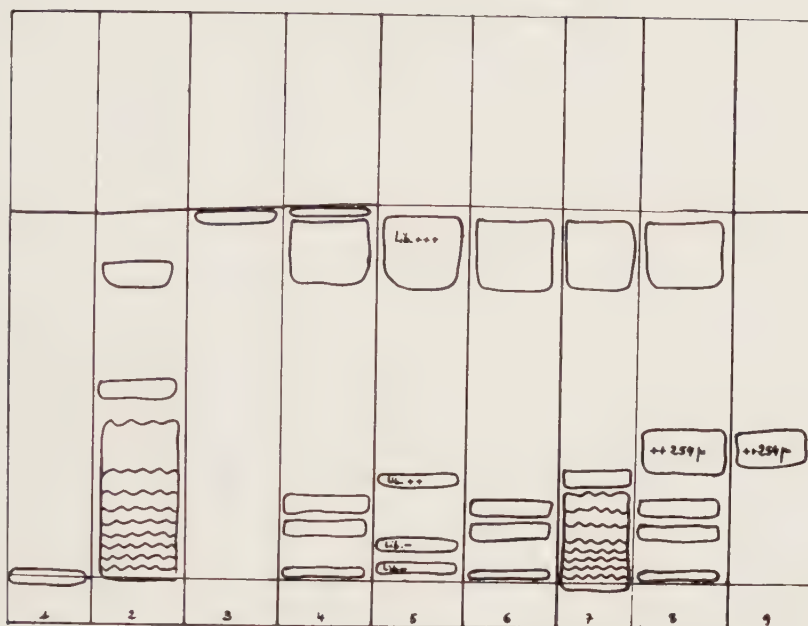


Figure 40

Type de réponses obtenues avec le solvant III - Ether de Pétrole Ether Ethylique (70:30).

(Ces réponses servent de confirmation aux réponses déjà obtenues dans les deux chromatographies précédentes).

- Réponse 1 : Tween P.E.G., Monoglycérides : à confirmer par le solvant V.
- Réponse 2 : Span, Ester de P.E.G. ou de Glycol : confirme la réponse 2 du solvant II.
- Réponse 3 : Hydrocarbures : confirme la réponse 1 du solvant I.
- Réponse 4 : Matières grasses (Glycérides) et Hydrocarbures : cf la réponse 2 du solvant I.
- Réponse 5 : Lanoléine (spots 1 et 2 : Lib +) confirme la réponse 1 du solvant II.
- Réponse 6 : Mélange type de Glycérides : confirme la réponse 3 du solvant II.
- Réponse 7 : Glycérides et Span ou Ester de P.E.G. : confirme la réponse 4 du solvant II.
- Réponse 8 : Glycérides et Alcools Gras : confirme la réponse 4 du solvant II.
- Réponse 9 : Alcools gras : confirme la réponse 2 b du solvant II.

B - ANALYSE :

Suivant les types de réponses obtenues aux essais préliminaires et aux essais chromatographiques, le plan de travail sera le suivant :

I - Elimination de l'eau

Passage de l'excipient à l'étuve à vide à 60° pendant 24 heures.

II - Récupération et caractérisation des émulsionnants ioniques.

La récupération est obtenue par solubilisation de l'excipient déshydraté dans le chloroforme (solution chloroformique A). Le résidu insoluble (émulsionnant ionique) est recueilli par filtration puis identifié après l'analyse de ses composants libérés par hydrolyse.

III - Récupération et analyse des hydrocarbures.

La solution chloroformique A est déposée sur une plaque préparative et plongée dans une cuve contenant le solvant Ether de Pétrole (100). Les hydrocarbures sont entraînés vers le front du solvant. Après grattage et récupération ils sont élués par l'éther de pétrole et analysés directement en chromatographie en phase gazeuse (chapitre II, 1er exemple).

IV - Séparation et analyse des émulsionnants non ioniques et des alcools gras.

Les produits restant adsorbés au point de départ après le passage de l'éther de pétrole pur sont grattés, récupérés et élués par le chloroforme qui sera ensuite éliminé par évaporation (résidu B).

Selon la solubilité de l'excipient dans l'alcool absolu , quatre éventualités peuvent se produire :

1) Il est insoluble et contient des émulsionnants non ioniques.

Le résidu B remis en solution dans le mélange chloroforme-méthanol (2:1) est déposé sur une plaque de chromatographie préparative sur laquelle va migrer l'alcool à 80 %. La substance entraînée est récupérée après grattage et éluee au Soxhlet successive - ment par de l'éther éthylique, puis par du chloroforme. Le résidu adsorbé au point de départ est récupéré, puis élué par du chloroforme (résidu C₁).

Le premier éluat par l'éther éthylique renferme les esters gras de glycols, de polyéthylène-glycols ou les spans : les différents éléments seront identifiés selon le protocole suivant : le produit sec restant après l'élimination de l'éther éthylique est saponifié. Les acides gras sont extraits ensuite après acidification et analysés en chromatographie en phase gazeuse. Dans la liqueur restante vont être alors recherchés par spots-tests (chapitre II, 1er exemple) les glycols, les polyéthylène-glycols et les anhydrides du Sorbitol, qui seront ensuite identifiés par chromatographie en couches minces (polyéthylène-glycols ou en phase gazeuse (glycols) selon les techniques déjà décrites.

Le second éluat par le chloroforme contient les polyéthylène-glycols et les tweens : le résidu obtenu après élimination du chloroforme est repris par l'eau, puis hydrolysé : par spots-tests, on décèle ensuite la présence soit du polyéthylène-glycol ou du tween ou des deux. L'identification du polyéthylène-glycol est obtenue en chromatographie en couches minces avec l'alcool à 80 %. Le tween est caractérisé par la mise en évidence de son principal acide gras estérifiant en chromatographie en phase gazeuse.

- 2) Il est soluble et contient des émulsionnants non ioniques, ou
- 3) Il est insoluble, mais on a décelé la présence d'alcools gras, ou de certains Spans ou enfin
- 4) Il est soluble et contient un mélange de tous ces produits.

produits

Dans ces trois cas le résidu B est traité par l'alcool à 80 % à 40° dans un tube à centrifuger (chapitre II, 2ème exemple). Après quatre extractions successives le surnageant après centrifugation rapide (4000 - 5000 tours/minute) renferme les émulsionnants non ioniques et les alcools gras, le résidu (résidu C₂) les matières grasses hydrophobes.

Le surnageant est ensuite hydrolysé par la soude. Dans la solution saponifiée encore tiède, on extrait les alcools gras (chapitre II, 2ème exemple) qui seront identifiés par chromatographie en phase gazeuse. Puis, après acidification franche, on extrait les acides gras qui seront aussi identifiés en chromatographie en phase gazeuse. Dans la liqueur résiduelle seront enfin décelés les glycols, les polyéthylène-glycols et les anhydrides du Sorbitol qui seront analysés comme précédemment.

V - Analyse des glycérides.

Les résidus C₁ et C₂ provenant soit de la chromatographie avec l'alcool à 80 % (et qui a été élué par le chloroforme : résidu C₁) soit de l'extraction par l'alcool à 80 % (et qui reste dans le fond du tube à centrifuger : résidu C₂) sont enfin déposés sur une plaque de chromatographie préparative et résolus par les systèmes de solvants préconisés pour les glycérides :

Ether de Pétrole - Et. O. Et. (70:30), Ether de Pétrole - Et. O. Et. (30:70), Et. O. Et. (100).

Les différentes fractions ainsi séparées, sont récupérées, éluées et leurs éléments constitutifs (acides gras et glycérine) déterminés après hydrolyse (chapitre I).

Le tableau XV résume cette méthode.

TABLEAU XV - Tableau d'analyse d'un excipient complexe de composition inconnue

| PRODUIT DE DEPART | TRAITEMENT | PRODUIT ISOLE |
|--|--|---|
| Excipient total | Passage à l'étuve à vide | Eau |
| Excipient déshydraté | Solubilisé dans CHCL_3 : sol. A | Emulseurs ioniques insolubles |
| Solution A | C.C. épaisses avec Ether de Pet.
Résidu adsorbé au point de départ
élué par CHCL_3 : résidu B | Hydrocarbures |
| Résidu B | C.C. épaisses avec alc. à 80 %
Résidu adsorbé au pt. de départ,
Résidu C ₁ | Emulseurs non ioniques |
| si sol. ou si ins.
mais + alc. Gras
et certains Spans. } | Epuisement en tube par alc. à 80 %
à 40°. Dans surnageant | Emulseurs non ioniques
et alcools gras. |
| Résidu C ₁ et C ₂ | Résidu C ₂
C.C. épaisses avec Ether de Pet.
Et. O. Et. (70:30)
Ether de Pet.
Et. O. Et. (30:70)
Et. O. Et. (100) | Triglycérides
Diglycérides
Monoglycérides |



CONCLUSIONS GENERALES

Notre premier but, en commençant ce travail, était d'élaborer une méthode d'analyse simple, assez rapide, permettant la séparation, l'identification et, si possible, le dosage des divers constituants d'un excipient complexe.

Dans un premier temps nous avons étudié les différents excipients tant anciens que modernes susceptibles d'être utilisés seuls ou en mélange dans la préparation des pommades et suppositoires. Cette énumération nous a paru nécessaire pour préciser la composition de ces produits ainsi que leurs principales constantes physico-chimiques indispensables.

La seconde partie est consacrée aux recherches bibliographiques qui nous ont permis d'étudier et de grouper les techniques d'analyse les plus intéressantes pour l'étude des excipients : c'est ainsi que nous avons sélectionné les techniques de chromatographie en couches minces et en phase gazeuse relatives aux matières grasses et aux nouvelles bases. Nous avons pu, ainsi, constater qu'elles concernaient seulement les analyses de groupes définis et non pas les mélanges.

Dans la troisième partie, nous avons exposé nos recherches personnelles. Le premier chapitre est consacré à l'analyse détaillée des excipients à base de glycérides, car des excipients de ce type sont, actuellement, utilisés et forment le substrat de nombreux excipients complexes. La technique chromatographique sur couches minces ou épaisses proposée présente certains avantages :

- elle est rapide : on peut analyser et récupérer en 8 heures, 10 grammes de produit .

- Elle est simple : on opère sur une seule plaque sur laquelle on fait migrer successivement trois systèmes de solvants. Simplicité aussi de la lecture et de la récupération car on utilise un gel de silice fluorescent à 254 et 366 m μ , donc il n'y a pas pulvérisation de réactifs dégradants et ainsi les produits élués sont purs.

Dans un second chapitre nous avons étudié toute une série de mélanges complexes à partir de glycérides et comprenant de l'eau, des hydrocarbures, des émulsionnants ioniques, non ioniques, des alcools gras. Les différentes techniques analytiques proposées sont basées essentiellement sur la caractérisation en chromatographie en couches minces des différents composants, suivie de leur isolement soit par chromatographie en couches épaisses préparatives, soit par extraction au moyen de solvants et de leur identification par spot-tests ou par chromatographie en phase vapeur.

Dans un dernier chapitre enfin nous avons réuni toutes les méthodes proposées en vue de l'élaboration d'une technique générale d'analyse d'excipients complexes. Cette technique comprend d'abord des essais préliminaires : fusion, mise en solution dans différents solvants, chromatographies. Puis, suivant les réponses obtenues dans ces essais, on effectue la récupération dans un ordre défini et l'identification des différentes substances pressenties, à partir d'une seule prise d'essai.

A présent, nous voudrions insister sur quelques points particuliers.

Tout d'abord les différentes techniques utilisées et la méthode générale proposée semblent du point de vue galénique et analytique intéressantes : elles ne demandent qu'un appareillage de base à la portée des laboratoires de recherches et d'industrie.

L'utilisation constante d'un adsorbant unique en chromatographie en couches minces, le gel de silice HF 254 + 366 m μ , avec toute une gamme de solvants permet, comme nous l'avons montré, d'isoler et de caractériser rapidement les différents composants d'un mélange complexe. Cet adsorbant très intéressant ne peut, cependant, être utilisé avec tous les solvants, en particulier ceux contenant des substances polaires, comme par exemple l'ammoniaque ou l'acide acétique.

Secondairement, la conséquence directe de cette technique est que la formulation de l'excipient en fin d'analyse ne peut

plus être énoncée selon les anciennes normes, c'est-à-dire en donnant le nom du composant principal et des autres mais de la façon détaillée suivante :

Emulsion du type H/E ou E/H, avec X % d'eau,

Agent émulsionnant ionique : Y %

Hydrocarbures de C_n à C_{n'} : Z %

Agents émulsionnants non ioniques : X' % composés de : Tween ,
Span, polyéthylène-glycol, ester de polyéthylène-glycol.

Alcool gras : Y %

Triglycérides des acides C.D.E. }

Diglycérides des acides C.D.E. }

Monoglycérides des acides C.D.E. }

Avec le pourcentage
respectif total
de chaque acide gras.

Ceux qui ont la nostalgie de l'ancienne nomenclature pourraient penser qu'il serait possible d'établir le nom de l'excipient à partir de ces résultats si on connaît parfaitement la composition de l'excipient, mais nous avons pu constater, au cours de nos essais, que c'était illusoire, de nombreuses substances utilisées comme excipients ayant la pureté industrielle, c'est-à-dire qu'ils sont formés d'un mélange de plusieurs produits très voisins.

--:--:--:--:--:--:--:--:--:--

Vu,

Clermont-Ferrand, le 18 Décembre 1967

Le Président du Jury

P. FEBVRE

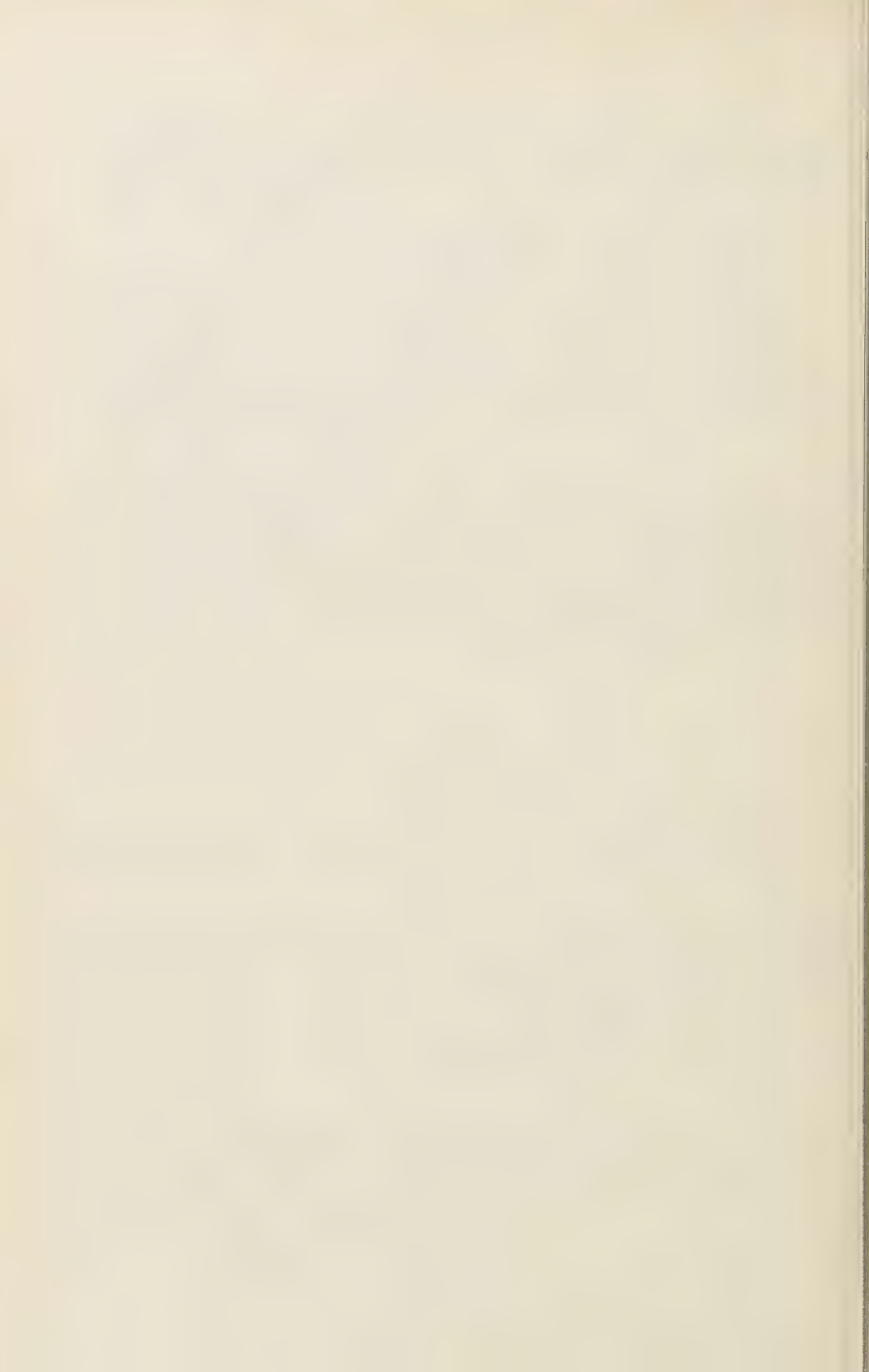
Vu, et Permis d'Imprimer

N° Ph 3/67

Clermont-Ferrand, le 19 Décembre 1967

Le Doyen de la Faculté Mixte
de Médecine et de Pharmacie

G. MEYNIEL



BIBLIOGRAPHIE

- 1 - ACHAYA T., CRAIG B.M., YOUNGS C.G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 783.
- 2 - ACKMAN R.D., BURGHER R.D. : Anal. Chem. 1963, 35, 647.
- 3 - ACKMAN R.D., BANNERMAN M., VANDENHEUVEL F. : Anal. Chem. 1960, 32, 1209.
- 4 - AEROGRAPH : Documents privés.
- 5 - AMAT F., MARQUINEZ E., UTRILLA R.M., MARTIN D. : Grasas y Aceites, 1966, 17, 47.
- 6 - AHRENS E.H., INSULL W., HIRSCH J., STOFFEL W., PETERSON M.L., FARQUHAR J.W., MILLER T., THOMASSON H.J. : Lancet, 1959, 115.
- 7 - AHRENS E.H. : Anal. Chem. 1959, 31, 307.
- 8 - ANKER L., SONANINI D. : Pharm. Helv. Acta 1962, 37, 360.
- 9 - APPLEWHITE T.H., DIAMOND M.J., GOLDBLATT L.A. : J. Amer. Oil Chemist's Soc., 1961, 38, 609.
- 10 - ARMANDOLA P. : Riv. Ital. Sostanze Grasse, 1964, XLI, 587.
- 11 - BABAYAN V.K., COCHRAN W.M. : J. Amer. Oil Chemist's Soc. 1959, 36, 181.
- 12 - BARRETT C.B., DALLAS M.S.J., PADLEY F.B. : J. Amer. Oil Chemist's Soc 1963, 40, 580.
- 13 - BARRETT C.B., DALLAS M.S.J., PADLEY F.B. : Chem. Ind. 1962, 1050.
- 14 - BEERTHUIS R., DIJKSTRA G., KEPPLER J., RECOURT J. : Ann. N.Y. Acad. Sci. 1959, 72, 616.
- 15 - BENK E. : Fette Seifen Anstr. Mitt. 1952, 54, 85.
- 16 - BERGER M. : Bull. Tech. Gattefosse. 1965, 62, 74.
- 17 - BISERTE C., SEZILLE G., BERTRAND M., JAILLARD J. : Ann. Biol. Clin. 1964, 22, 861.

- 18 - BLACK B.C., HAMMOND E.G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1963, 40, 575.
- 19 - BLANK M.L., VERDINO B., PRIVETT O.S. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 42, 87.
- 20 - BOBBIT J.M. : Thin-layer chromatography. Reinhold Pub. 1963.
- 21 - BONAR A.R. : Rev. Intern. Chocolat. 1965, 20, 242.
- 22 - BORECKY J., GASPARIC J. : Mikrokim. Acta. 1961, 96.
- 23 - BOTTCHER C.J.F., CLEMENS G.F.G., VANGENT C.M. : J. Chromatog. 1960, 3, 584.
- 24 - BOTTCHER C.J.F., WOODFORD F., BOELSMA VAN HOUTE E., VANGENT C. : Rec. Trav. Chim. Pays Bas. 1959, 78, 794.
- 25 - BO'JISSOU P. - Journées Pharmaceutiques Françaises, Sedes Ed. 1952, 139.
- 26 - BREITBURD P., PUISIEUX F., LE HIR A. : Ann. Pharm. Françaises, 1966, 24, 191.
- 27 - BURGER K. : Z. Anal. Chem. 1963, 196, 251.
- 28 - CARLIER A., PUISIEUX F., MIET C., LE HIR A. : Ann. Pharm. Françaises, 1966, 24, 349.
- 29 - CARLIER A., PUISIEUX F., LE HIR A. : Ann. Pharm. Françaises, 1967, 25, 473.
- 30 - CARLIER A., CHAIGNEAU M., GIRY L., PUISIEUX F., LE HIR A. : 27è Congrès International des Sciences pharmaceutiques, Montpellier, 1967.
- 31 - CARLIER A., CHAIGNEAU M., GIRY L., PUISIEUX F., LE HIR A. : 27è Congrès International des Sciences pharmaceutiques, Montpellier, 1967.
- 32 - CARROLL K.K. : Nature, 1961, 191, 377.
- 33 - CELADES J., PAQUOT C. - Rev. Franç. Corps Gras. 1962, 9, 145.
- 34 - CERDAS J., CARLIER A., PUISIEUX F., LE HIR A. : Ann. Pharm. Françaises. 1967, 25, 553.
- 35 - CHACKO G.K., PERKINS E.G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 843.
- 36 - CHAPMAN D., CROSSLEY A., DAVIES A.C. : J. Chem. Soc. 1957, 1502.
- 37 - CHUPAROVA E., CHOBANOV D., POPOV A. : Izv. Inst. Org. Khim. Bulgar. Akad. Nauk. 1965, 2, 31.
- 38 - CLEMENT J., LAVOUE G., CLEMENT G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 42, 1035.

- 39 - COTTE J. - Labo. Pharma. 1954, 13.
- 40 - COTTE J. : Bull. Tech. Gattefossé. 1957, 8, 69.
- 41 - COTTE J., GUILLOT B. : Bull. Tech. Gattefossé 1963, 59.
- 42 - COTTE J. - Labo. Pharma. 1963, 27
- 43 - COTTE J. - Bull. Soc. Dermopharmacie, 1963, 18, 24.
- 44 - CRAIG B., MURTY N. : Can. J. Chem., 1958, 36, 1297.
- 45 - CRAIG B., MURTY N. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1959, 36, 549.
- 46 - CRUMP G.B. : Nature, 1962, 193, 674.
- 47 - DANIELS M., RICHMOND J. - Nature, 1956, 187, 55.
- 48 - DENOËL A. : Pharmacie Galénique - Presses Universitaires de Liège - 1964, Liège.
- 49 - DOLEV A., OLCOTT H.S. : J. Amer. Oil Chemist's Soc. 1965, 42, 1046.
- 50 - DORO B., REMOLI S. : Riv. Ital. Sost. Grasse, 1965, XLII, 108.
- 51 - DOUSSET J.C., VALDIGUIE P. : Rev. Med. Toulouse, 1967, 111, 269.
- 52 - DOWETT P., HORROCKS B.J. : Nature, 1961, 192, 966.
- 53 - EMERY E.M., KOERHER W.E. : Anal. Chem. 1961, 33, 147.
- 54 - ERWIN E.S., MARCO G.J., EMERY E.M. : J. Dairy. Sci. 1961, XLIV, 1768.
- 55 - FARQUHAR J., INSULL W., ROSEN P., STOFFEL W., AHRENS E.: Nutr. Rev. 1959, 17, n° 8, Supp.
- 56 - FEDELI E., LANZANI A., VALENTINI A.F., JACINI G. : Riv. Ital. Sostanze Grasse, 1965, 42, 67.
- 57 - FELDMAN G.L., ROUSER G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 42, 290.
- 58 - FLEISCHMANN G. : Dermatologische Wchr. 1943, 116, 345.
- 59 - FRANZKE Cl., JANTZ A. : Nahrung, 1964, 8, 637.
- 60 - GASPARIC J., BORECKY J. : J. Chromatog. 1961, 5, 466.
- 61 - GATEWOOD L., GRAHAM H.D. : J. Pharm. Sci. 1960, 49, 678.
- 62 - GAUTHIER H., MANGENEY G. : J. Chromatog. 1964, 14, 209.
- 63 - GISCLOND D. : Thèse de Pharmacie - Clermont-Fd, 1965.
- 64 - DE GRACIANSKY P. : Rev. Prat. 1957, VII, 915.
- 65 - GRYNBERG H., CEGŁOWSKA K., SZCZEPANSKA H. : Rev. Franç. Corps Gras, 1966, 35, 595.
- 66 - GUNSTONE F., SYKES P. : Chem. Ind. 1960, 1, 30.

- 67 - HARDY C.J., POLLARD F.H. : J. Chromatog. 1959, 2, 22.
- 68 - HASHIMOTO Y. : Thin-layer chromatography. Hirokawa-Shotten Ltd., Tokyo, 1962.
- 69 - HAWKE J., HANSEN R., SHORLAND F. : J. Chromatog. 1959, 2, 547.
- 70 - HAWKE J., DUNKLEY N., HOOKER C. : New. Zel. J. Sci. Tech. 1957, 38 B, 925.
- 71 - HENLY R.S. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 42, 673.
- 72 - HILDITCH T.P. : The Chemical constitution of natural fats, Chapman Ed. London 1956.
- 73 - HOECHST Brochure technique.
- 74 - HOFMANN A.F. : J. Lipid. Res. 1962, 3, 391.
- 75 - HOMBERGER K., LEHMANN H., MÜNZEL K. : Schweiz. Apotheker Z. 1952, 90, 781.
- 76 - HORNSTEIN I., CROWE P.F. : Anal. Chem. 1961, 33, 310.
- 77 - HUEBNER V. - J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1959, 36, 262.
- 78 - HUNTER I.R., ORTEGREN V.H., PENCE J.W. : Anal. Chem. 1960, 32, 682.
- 79 - IVERSON P. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 48, 902.
- 80 - JACOBELLITURI C. - Rend. Ist. Sup. Sanita. 1959, 23, 1117.
- 81 - JÄGER H. : Deut. Apotheker Z. 1951, 91, 832.
- 82 - JAMES A.T., MARTIN A.J.P. : Biochem. J. 1956, 63, 144.
- 83 - JAMES A.T., MARTIN A.J.P. : Biochem. J. 1956, 63, 269.
- 84 - JAMES A.T., WHEATLEY V.R. : Biochem. J. 1956, 63, 269
- 85 - JAMES A.T., WEBB J. : Biochem. J. 1957, 68, 515.
- 86 - JAMES A.T. : Qualitative and quantitative determination of fatty acids by G.L.C. in Glick D. Methods of Biochemical analysis. Interscience Pub. N.Y. 1960, vol. VIII.
- 87 - JAMES A.T. : Amer. J. Chim. Nut. 1958, 6, 595.
- 88 - JAMES A.T. : J. Chromatog. 1959, 2, 552.
- 89 - JAMINET Fr. : J. Pharm. Belg. 1954, 9, 318.
- 90 - JANAK J. : J. Chromatog. 1960, 3, 388.
- 91 - JART A. : Oleagineux, 1959, 14, 651.
- 92 - JATZKEWITZ H., MEHL E. : Hoppe Seyler's Z. Physiol. Chem. 1960, 320, 251.
- 93 - JONES D. : J. Chromatog. 1966, 23, 172.
- 94 - JURRIENS G., KROESEN A.C.J. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 42, 9.

- 95 - KARIYONE T. - Intern. Kongr. - Grenzflächenaktive Stoffe, Köln, 1961, I, 56.
- 96 - KAUFMANN H.P., MAKUS Z. : Fett. Seifen. 1960, 62, 1014.
- 97 - KAUFMANN W., LEE G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1960, 37, 385.
- 98 - KAUFMANN H.P., SU KO Y. : Fette Seifen. 1961, 63, 828.
- 99 - KAUFMANN H.P., MAKUS Z., DAS B. : Fette Seifen. 1961, 63, 807.
- 100 - KAUFMANN H.P., MAKUS Z., KHOE T.H. : Fette Seifen, 1962, 64, 1.
- 101 - KAUFMANN H.P., KHOE T.H. : Fette Seifen, 1962, 64, 81.
- 102 - KAUFMANN H.P., DAS B. : Fette Seifen, 1962, 64, 214.
- 103 - KELLEY T.F. : J. Chromatog. 1966, 22, 456.
- 104 - KILLHEFFER J., JUNGERMANN E. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1960, 37, 456.
- 105 - Mc KINNEY R.W. : J. Gas. Chromatog. 1964, 2, 108.
- 106 - KIRKLAND J.J. : Anal. Chem. 1963, 35, 2003.
- 107 - KOUROVTZEFF K. : Rev. Franç. Corps Gras. 1966, 543.
- 108 - KUKSIS A., Mc. CARTHY M.J. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1963, 40, 679.
- 109 - KUKSIS A., Mc. CARTHY M.J. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 17.
- 110 - LANDOWNE R., LIPSKY S. : Biochim. Biophys. Acta. 1961, 47, 589.
- 111 - LAVOUE G., CLEMENT J. : Rev. Franç. Corps Gras. 1966, 530.
- 112 - LEFORT D. - J. Chromatog. 1966, 22, 266.
- 113 : LEFORT D., PAQUOT C., POURCHEZ A. : Journées internationales d'étude des méthodes de séparation immédiate et de chromatographie. Juin 1961, Paris.
- 114 - LEFORT D., PAQUOT C., POURCHEZ A. : Oléagineux, 1961, 16, 253.
- 115 - LIPSKY S., LANDOWNE R. : Biochim. Biophys. Acta. 1958, 27, 666.
- 116 - LIPSKY S., LANDOWNE R., GODET M. : Biochim. Biophys. Acta. 1959, 31, 336.
- 117 - LIPSKY S., LOVELOCK J., LANDOWNE R. : J. Amer. Chemist's Soc. 1959, 81, 1010.
- 118 - LIPSKY S., LANDOWNE R., LOVELOCK J. : Anal. Chem. 1959, 31, 852.

- 119 - LIPSKY S., LANDOWNE R. : Ann. N.Y. Acad. Sci. 1959, 72, 559.
- 120 - LITCHFIELD C., MARLOW R.D., REISER R. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1965, 42, 849.
- 121 - LUDDY F., BARFORD R., RIEMEN SCHNEIDER R. : J. Amer. Oil Chemist's Soc. 1960, 37, 447.
- 122 - Mc INNES A., TATTRIE N., KATES M. : J. Amer. Oil Chemist's Soc. 1960, 37, 7.
- 123 - MALAPRADE M. : Bull. Soc. Chim. 1928, 43, 683.
- 124 - MANGOLD H.K., KAMMERECK R. : Chem. Ind. 1961, 1032.
- 125 - MANGOLD H.K., MALINS D.C. - Microchem. J. Symp. Ser. 1963, 2, 697.
- 126 - MANGOLD H.K., TUNA N. : Fed. Proc. 1961, 20, 268.
- 127 - MANGOLD H.K. : Fette Seifen 1956, 61, 877.
- 128 - MANGOLD H.K. - In Dünnschicht. chromatographie par E. Stahl. Springer Verlag, 1962.
- 129 - MARILLIER P. : Parfumerie cosmétique, savon 1960, 3, 21.
- 130 - MARTIN A., SYNGE R. : Biochem J. 1941, 35, 1358.
- 131 - MARTIN A., JAMES A. : Biochem. J. 1952, 50, 679.
- 132 - MEARA M.L. : J. Chem. Soc. 1949, 2154.
- 133 - METCALFE L.D. : J. Gas. Chromatog. 1963, 1, 7.
- 134 - METCALFE L.D. : Nature, 1960, 188, 142.
- 135 - METCALFE L.D., SCHMITZ A.A., PELKA J.R. : Anal. Chem. 1966, 38, 514.
- 136 - METCALFE L.D., SCHMITZ A. : Anal. Chem. 1961, 33, 363.
- 137 - MICHALEC C., SULC M., MESTAN J. - Nature, 1962, 193, 63.
- 138 - MIWA T., MIKOLAJCZAK K., EARLE F., WOLFF I. : Anal. Chem. 1960, 32, 1739.
- 139 - MORRIS L., HOLMAN R., FONTELL K. : J. Lipid. Res. 1960, 1, 412.
- 140 - MORRIS L., HOLMAN R., FONTELL K. : J. Lipid. Res. 1961, 2, 68.
- 141 - MORRIS L.J. : Chem. Ind. 1962, 1238.
- 142 - MORRIS L.J., HOLMAN R.T., FONTELL K. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1960, 37, 323.
- 143 - MORRISON W.R. : Chem. Ind. 1961, 1534.
- 144 - MUNIER R., MACHEBOEUF M. : Bull. Soc. Chim. Biol. 1951, 33, 846.

- 145 - NAUDET M. : Thèse Docteur ès-Sciences - Faculté des Sciences
Marseille, 1947.
- 146 - NIKELLY J.G. : Anal. Chem. . 1964, 36, 2244.
- 147 - ORR C.A., CALLEN J.E. : J. Amer. Chemist's Soc. 1958, 80
249.
- 148 - ORR C.A., CALLEN J. : Ann. N.Y. Acad. Sci. 1959, 72, 649.
- 149 : PAQUOT C. - Ann Nutrition et Alimentation, 1962, XVI, 207.
- 150 - PAULOSE M.M. : J. Chromatog. 1966, 21, 141.
- 151 - PAYS M., MALANGEAU P., BOURDON R. : Ann. Pharm. Franç.
1967, 25, 29.
- 152 - PETIT J. : Thèse Pharmacie - Clermont-Fd, 1965.
- 153 - PREVOT A. - Rev. Franç. Corps Gras. 1965, 4, 299.
- 154 - PREY V., BERBALK H., KAUSZ M. : Mikrochim. Acta. 1962,
449.
- 155 - PRIVETT O.S., BLANK M.L. : J. Lipid. Res. 1961, 2, 37.
- 156 - PRIVETT O.S., BLANK M.L., LUNDBERG W.O. : J. Amer.
Oil. Chemist's Soc. 1961, 38, 312.
- 157 - PRIVETT O.S., BLANK M.L. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc.
1962, 39, 520.
- 158 - PRIVETT O.S., BLANK M.L., CODDING D.W., NICKELL E.C.:
J. Amer. Oil Chemist's Soc. 1965, 42, 381.
- 159 - RANDEKATH K. : Dünnschicht-chromatographie, Verlag Chemie,
Weinheim, 1962.
- 160 - RANDEKATH K. - Thin-layer chromatography - Academic Press,
New-York, 1963.
- 161 - RAO P.B., SREENIVASAN B. : Chem. Ind. 1966, 1376.
- 162 - RAUP G. - Angew. Chem. 1959, 71, 284.
- 163 - ROPER R., MA T.S. : Microchem. J. 1957, 1, 245.
- 164 - ROUSER G., GALLI C., LIEBER E., BLANK M.L., PRIVETT O.S.
J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 836.
- 165 - RUGGIERI S. : Nature, 1962, 193, 1282.
- 166 - SAVARY P., FLANZY J., DESNUELLE P. : Biochim. Biophys.
Acta. 1957, 24, 414.
- 167 - SAVARY P., DESNUELLE P. - Biochim. Biophys. Acta., 1959,
31, 26.
- 168 - SAVARY P., DESNUELLE P. : Biochim. Biophys. Acta. 1961,
50, 319.
- 169 - SCHLIERF G., WOOD P. : J. Lipid. Res. 1965, 6, 317.

- 170 - SCHMELTZ I., MILLER R.L., STEDMAN R.L. : J. Gas Chromatog. 1963, 1, 27.
- 171 - SCHNEIDER H. : Südd. Apotheker Z. 1948, 15, 431.
- 172 - SCHOLFIELD C.R., DUTTON M.J. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1959, 36, 325.
- 173 - SCHÜTZ E. : Arzn. Forsch. 1953, 451.
- 174 - SMITH E.D., GOSNELL B.A. : Anal. Chem. 1962, 34, 438.
- 175 - SMITH M., BENGT H. : Acta Chem. Scand. 1959, 13, 480.
- 176 - SNYDER F., STEPHENS N. : Anal. Biochem. 1962, 4, 128.
- 177 - SPRINGER R., WEIGAND H. : Pharm. Zeitg. 1959, 104, 1018.
- 178 - STAHL E. : Dünnschicht-Chromatographie. Springer Verlag, Berlin, 1962.
- 179 - STAHL E. : Chem. Ztg. 1958, 82, 323.
- 180 - STEINER E.H., BONAR A.R. : J. Sci. Food. Agric. 1961, 12, 247.
- 181 - STEINER E.H., BONAR A.R. : Rev. Intern. Chocolat. 1965, 20, 248.
- 182 - STEINER E.H., BONAR A.R. : Rev. Intern. Chocolat. 1965, 20, 380.
- 183 - STOFFEL W., AHRENS E. : J. Amer. Chemist's Soc. 1958, 80, 6606.
- 184 - STOFFEL W., INSULL W., AHRENS E. : Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1958, 99, 238.
- 185 - STOFFEL W., CHU F., AHRENS E. : Anal. Chem. 1959, 31, 307.
- 186 - STUVE V.W. : Fette Seifen Anstr. Mitt 1961, 63, 325.
- 187 - SUBBARAM M.R., YOUNGS C.G. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 445.
- 188 - SUCKER H. : Deut. Apotheker Z., 1961, 101, 441.
- 189 - SUFFIS R., SULLIVAN T.J., HENDERSON W.S. : J. Soc. Cosm. Chem. 1965, 16, 783.
- 190 - THOMA K., ROMBACH R., ULLMANN E. - Scientia Pharmaceutica, 1964, 32, 216.
- 191 - TRANCHANT L. : Chromatographie en phase gazeuse. Ed. Masson, Paris, 1964.
- 192 - TRUTER E.V. : Thin film chromatography, Cleaver - Hume Press Ltd., Londres, 1963.
- 193 - VAN DER HOEVE J.A. : J. Soc. Dyers Colourist's. 1954, 70, 145

- 194 - VAN DER HOEVE J.A. : Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 1948, 67, 649.
- 195 - VAN HAELEN M. : 27ème Congrès International des Sciences Pharmaceutiques, Montpellier, 1967.
- 196 - VIOQUE E., MAZA M.P., CALDERON M. : Grasas y Aceites, 1964, 15, 172.
- 197 - VIOQUE E., HOLMAN R.T. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc., 1962, 39, 63.
- 198 - VOGEL W.C., DOIZAKI W.M., ZIEVE L. : J. Lipid. Res. 1962, 3, 138.
- 199 - VORBECK M.L., MATTICK L.R., LEE F.A., PEDERSON C.S. : Anal. Chem. 1961, 33, 1512.
- 200 - WAGENER H. : Nature, 1965, 205, 386.
- 201 - WAGENER H., HÖRHAMMER L., WOLFF P. : Biochem. Z. 1961, 334, 175.
- 202 - WARTH A.H. : The chemistry and technology of waxes. 2ème ed. Reinhold Publishing Cop. N.Y. 1956.
- 203 - WELLENDORF M. : Dansk. Tidsskr. Farm. 1963, 37, 89.
- 204 - WETTEREAU F.P., OLSANSKI V L., SMULLIN C.F. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 791.
- 205 - WHITE H.B. : J. Chromatog. 1966, 21, 213.
- 206 - WINCKLER W.O. : J. Assoc. Offic. Agr. Chemist. 1962, 45, 551.
- 207 - WOIDICH H., GNAUER H., RIEDL O., GALINOVSKY E. : Z. Lebensm. Untersuch. Forsch. 1964, 125, 91.
- 208 - WOODFORD F.P. : In Drugs affecting Lipid metabolism. S. Garrattini. Elsevier Ed. 1961.
- 209 - WOODFORD F.P., VAN GENT C.M. : J. Lipid. Res. 1960, 1, 188.
- 210 - WOODFORD F.P. : In Fatty Acid, Part 3. p. 2276. Interscience Publ. N.Y. 1964.
- 211 - WURZSCHMITT B. : Z. Anal. Chem. 1950, 130, 105.
- 212 - YOSHIKAWA K. : Yukakaku, 1966, 15, 65.
- 213 - YOUNGS C.G., SUBBARAM M.R. : J. Amer. Oil. Chemist's Soc. 1964, 41, 218.
- 214 - ZOLLNER N., WOLFRAM G. : Klin. Wochschr. 1962, 40, 1098.

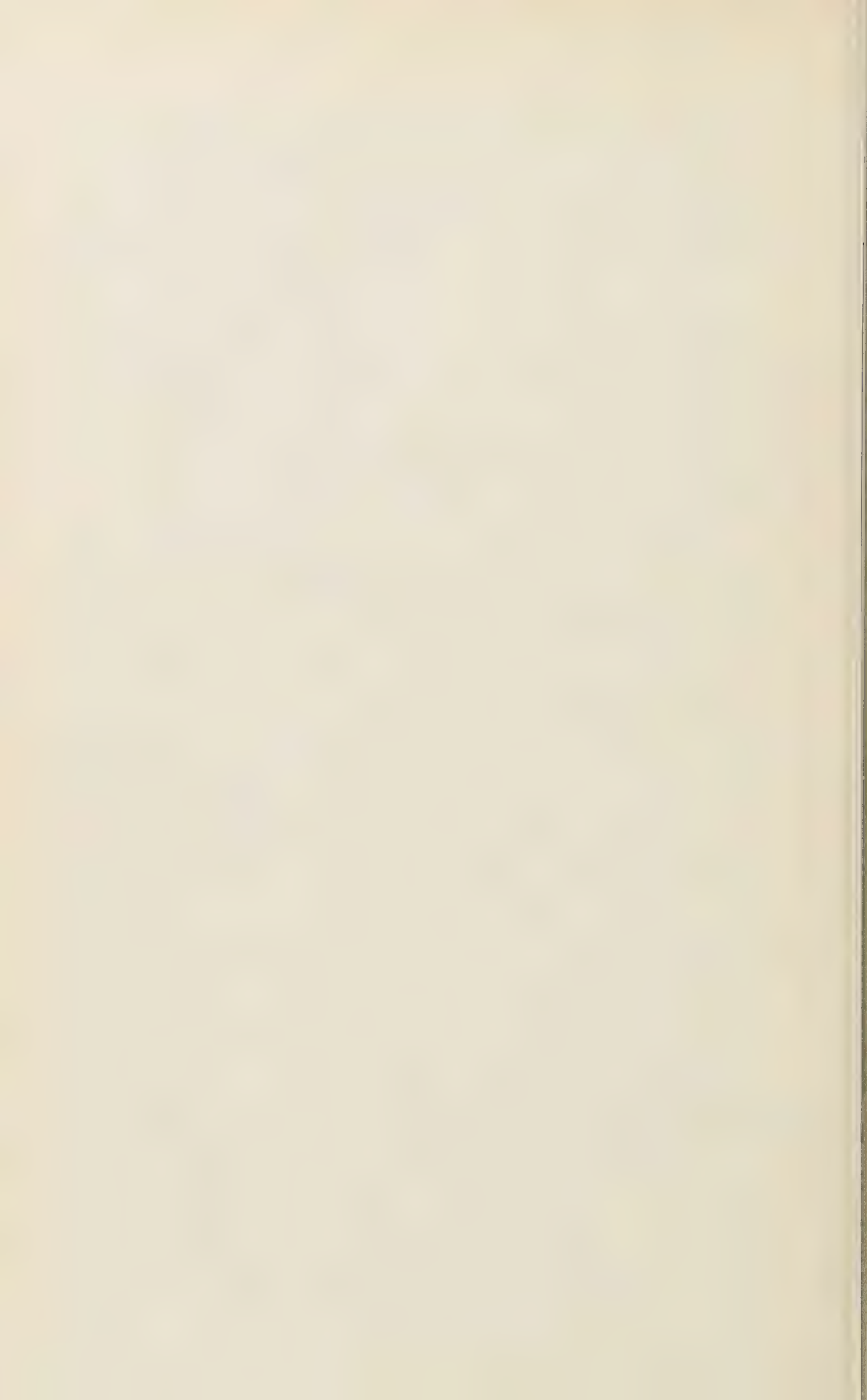


TABLE DES MATIERES

| | |
|--------------------|--------|
| INTRODUCTION | page 1 |
|--------------------|--------|

PREMIERE PARTIE :

| | |
|--|---------|
| Classification et étude des excipients.... | page 5 |
| CHAPITRE I : Les excipients anciens | page 7 |
| CHAPITRE II : Les excipients modernes | page 13 |
| A - Excipients gras ou non gras, hydrosolubles
ou susceptibles de s'émulsionner | page 14 |
| - Les dérivés des glycols | page 14 |
| - Les agents de surface | page 19 |
| a) Anioniques | page 20 |
| b) Cationiques | page 20 |
| c) Non-ioniques | page 20 |
| B - Excipients gras hydro-insolubles plus ou
moins hydrodispersibles | page 27 |

DEUXIEME PARTIE :

| | |
|---|---------|
| Recherches bibliographiques | page 35 |
| CHAPITRE I : Revue des techniques de chromatographie en couches minces appliquées aux différentes classes de matières grasses | page 37 |
| CHAPITRE II : Revue des techniques de chromatographie en phase gazeuse appliquées à l'étude des matières grasses..... | page 43 |
| CHAPITRE III : Revue des techniques de chromatographie relatives aux nouveaux excipients | page 51 |

TROISIEME PARTIE :

| | |
|--|---------|
| Recherches personnelles | page 53 |
| CHAPITRE I : Etude des glycérides des matières grasses par la combinaison des chromatographies en couches minces et en phase gazeuse | page 57 |

| | |
|--|----------|
| A - Techniques proposées | page 58 |
| - C.C.M. analytique | page 58 |
| - C.C. épaisses préparatives | page 58 |
| - Protocole expérimental | page 60 |
| B - Etude qualitative et quantitative des glycérides
obtenus | page 63 |
| - Méthodes utilisées (Chrom. Phase gazeuse)..... | page 66 |
| - Applications à quelques excipients | page 74 |
| CHAPITRE II : Analyse d'un excipient complexe
de composition connue | page 82 |
| - Premier exemple : mélange formé de :
eau
hydrocarbures
émulgateurs non ioniques
glycérides | page 83 |
| - Autres exemples | page 97 |
| Addition : d'alcools gras | page 97 |
| d'émulgateurs ioniques | page 101 |
| de lanoléine, cire d'abeille,
et de blanc de baleine | page 102 |
| CHAPITRE III : Analyse d'un excipient de composition
inconnue | page 107 |
| - Essais préliminaires | page 107 |
| - Analyse | page 112 |
| <u>CONCLUSIONS GENERALES</u> | page 117 |
| <u>BIBLIOGRAPHIE</u> | page I |

-:-:-:-:-

